

CAROLINA MARIA ALBUQUERQUE

CLARIFICAÇÃO DE SUCO DE LARANJA “CORE WASH” POR
PROCESSO DE FLOTAÇÃO AUXILIADO POR ENZIMAS
PECTINOLÍTICAS E AGENTES CLARIFICANTES

São José do Rio Preto
Agosto de 2009

CAROLINA MARIA ALBUQUERQUE

CLARIFICAÇÃO DE SUCO DE LARANJA “CORE WASH” POR
PROCESSO DE FLOTAÇÃO AUXILIADO POR ENZIMAS
PECTINOLÍTICAS E AGENTES CLARIFICANTES

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre em Engenharia e Ciência de Alimentos, área de Engenharia de Alimentos junto ao Programa de Pós-graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Campus de São José do Rio Preto.

Orientador: Prof. Dr. Roger Darros-Barbosa

São José do Rio Preto
Agosto de 2009

Albuquerque, Carolina Maria.

Clarificação de suco de laranja "core wash" por processo de flotação auxiliado por enzimas pectinolíticas e agentes clarificantes. / Carolina Maria Albuquerque. - São José do Rio Preto : [s.n.], 2009.
100 f. : il. ; 30 cm.

Orientador: Roger Darros-Barbosa

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas

1. Enzimas - Aplicações industriais. 2. Suco de laranja - Indústria.
3. Enzimas pectinolíticas. 4. Flotação. 5. Agentes clarificantes. 6. Clarificação. 7. Core-wash. 8. Suco de frutas. I. Darros-Barbosa, Roger, II. Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas. III. Título.

CDU - 663.81

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca do IBILCE
Campus de São José do Rio Preto - UNESP

CAROLINA MARIA ALBUQUERQUE

CLARIFICAÇÃO DE SUCO DE LARANJA “CORE WASH” POR
PROCESSO DE FLOTAÇÃO AUXILIADO POR ENZIMAS
PECTINOLÍTICAS E AGENTES CLARIFICANTES

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Roger Darros-Barbosa
Professor Assistente Doutor
UNESP – São José do Rio Preto
Orientador

Prof^a. Dr^a. Maria Aparecida Mauro
Professor Assistente Doutor
UNESP – São José do Rio Preto

Prof. Dr. José Fernando Durigan
Professor Titular
UNESP – Jaboticabal

São José do Rio Preto, 14 de agosto de 2009.

*Aos meus pais, pela orientação, apoio
e garra; sem os quais nada disso seria possível.*

*Ao Vinícius, pelo amor, compreensão,
paciência e apoio.*

À minha madrinha, em memória.

dedico...

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Dulce e “Lero” por terem me fornecido a base para eu chegar até aqui, terem me incentivado a estudar continuamente, a cursar uma universidade pública e me ensinarem a batalhar honestamente pela minha carreira e coisas que eu acredito.

Às minhas irmãs, Juliana e Giovana, pela amizade e apoio mesmo distantes.

Ao Vinícius, pelo carinho, incentivo, amor e compreensão pela minha ausência.

Ao meu amigo e orientador, Profº Roger, pelos seus ensinamentos, paciência com meus problemas “extra-mestrado”, pelas horas orientadas nos finais de semana e nos horários não convencionais e por me fazer acreditar sempre.

Aos integrantes da banca examinadora de minha qualificação e defesa, Profº José Fernando, Profª Maria Aparecida e Profº José Antônio pelas observações e contribuições.

Aos professores e alunos do DETA que de alguma forma contribuíram para esse trabalho, e, em especial, aos Profº Francisco e Profº José Antônio por terem me cedido o laboratório para execução dos experimentos.

Aos técnicos dos laboratórios do DETA, Jesuíno e Ginaldo por me socorrerem.

À empresa KB Citrus Agroindústria Ltda., representada pelo Sr. Wagner, por ter sugerido o tema em estudo.

À empresa Bascitrus Agro-Indústria S.A., representada pelo Sr. Alexandre, por ter me incentivado continuamente a reciclar meus conhecimentos, iniciar o mestrado e por disponibilizar a empresa no que eu precisasse para conclusão do mesmo.

À Alcoeste Destilaria Fernandópolis S.A., na época, representada pelos Srs. Luis, Celso e Titosi, que permitiu que eu continuasse meus estudos me cedendo um dia por semana de meu trabalho para a realização do mestrado.

À LNF Latino Americana, representada pelo Srs. Flores e Eduardo, pelas informações e amostras fornecidas de enzimas e agentes clarificantes.

À MRM Comércio de Produtos Metalúrgicos e Prestação de Serviço LTDA-ME, representada pelo Sr. Brito, pelo auxílio na construção do flotor.

Aos colegas da pós-graduação Aninha, pela ajuda no início do mestrado, discussões e estudos em conjunto; Zailer, pela parceria durante as disciplinas; e Lina, por ter se mostrado muito amiga mesmo tendo a conhecido há tão pouco tempo.

À Mônica, Júlio, Luciana, Vanessa, Sr. Guillermo e D. Dijalva, pelo apoio, descontração e paciência com meus desabafos.

À Neila por todo carinho e acolhida, abrindo mão muitas vezes de estar com seu marido em meu auxílio, tornando-se uma grande amiga.

À Maria Márcia pela disposição em ajudar sempre.

À D. Doda pelos almoços nos dias em que eu ficava no IBILCE.

RESUMO

A recuperação dos sólidos solúveis presentes na membrana central da laranja, separada durante a etapa de extração industrial do suco, normalmente produz um suco contendo de 5 a 6°Brix e uma série de outros compostos insolúveis (cerca de 9%), muitos dos quais contribuem para a baixa qualidade do suco, sendo responsáveis pelo amargor e adstringência. O presente trabalho propôs-se a clarificar esse suco contendo sólidos recuperados, empregando um pré-tratamento com enzimas pectinolíticas seguido por tratamento por flotação por injeção de ar comprimido auxiliada por agentes clarificantes: bentonita, sílica sol e colágeno hidrolisado. Constituíram-se os objetivos: (i) a determinação das melhores condições (tipo de enzima pectinolítica, duas hidrolases e duas pectinases, e tempo de incubação) para a degradação enzimática da pectina presente; (ii) a determinação da melhor combinação dos agentes clarificantes visando obter um subproduto clarificado através do monitoramento de parâmetros físico-químicos (capacidade floculante e transmitância) e (iii) a avaliação do processo de flotação com diferentes concentrações de bentonita (500, 1.000 e 1.500 mg L-suco⁻¹ e pressões (490, 680 e 880 kPa) pela determinação do grau de clarificação através de monitoramento da transmitância do clarificado, pela determinação da velocidade de flotação/separação das fases, através da verificação das frações volumétricas das fases separadas (clarificado, sedimentado e flotado), em intervalos de tempos regulares durante o processo de flotação e pela análise do produto final clarificado. Os produtos clarificados foram analisados com relação ao conteúdo de sólidos solúveis e insolúveis, pH, acidez titulável, polpa, transmitância, cor (parâmetros L*, a*, b*), proteína, pectina total, sódio, hesperidina, polifenóis e bioflavonóides. Para o tratamento enzimático, a enzima poligalacturonase purificada, na dosagem de 0,05 mL L-suco⁻¹, foi considerada a mais adequada, pois permitiu a degradação da pectina presente em 1 hora de tratamento a 45°C. Como auxiliares de clarificação foram definidas 0,15 mL L-suco⁻¹ e 100 mg L-suco⁻¹ como as dosagens ótimas, respectivamente, para a sílica sol e o colágeno hidrolisado. Os resultados obtidos no processo de flotação por injeção de ar comprimido auxiliado por agentes clarificantes demonstram a efetividade na clarificação do suco derivado do processamento da laranja. Alcançou-se elevados índices de transmitância, 94,4% (490 kPa/1.500 mg L-suco⁻¹ de bentonita) e claridade (L*), 96,95 (880 kPa/1.500 mg L-suco⁻¹ de bentonita). O estudo cinético permitiu determinar as taxas de formação do clarificado que variou entre 6,92 a 11,78 mL min⁻¹. As condições empregadas experimentalmente possibilitaram avaliar a influência da

pressão e da concentração de bentonita na flotação, com os resultados sugerindo que em pressões mais altas, tem-se mais ar dissolvido no suco, necessitando menor energia para a formação das microbolhas, e com o teor de bentonita exercendo menor influência na flotação do que a pressão. Quando pressões mais baixas são utilizadas, a bentonita tem um papel mais significativo na clarificação.

PALAVRAS CHAVES: enzimas – aplicações industriais, suco de laranja – indústria, enzimas pectinolíticas, flotação, agentes clarificantes, clarificação, core-wash, sucos de frutas.

ABSTRACT

Core membrane of the orange fruit separated during the juice extraction step in the citrus processing industrial plant, is currently submitted to a soluble solids recovery process, normally producing a by product (secondary) juice containing about 5 to 6° Brix and other insoluble components (about 9%), which contribute to the juice's low quality, since many are responsible for the bitterness and adstringency. This research aimed to clarify this by-product juice containing recovered solids, by enzyme pre-treatment with pectic enzymes, followed by a flotation treatment with compressed air injection using fining agents: bentonite, silica sol and hydrolyzed collagen. The objectives were (i) to determine the best conditions (enzyme type, two hydrolyses and two pectin-liases and incubation time) for the enzyme treatment for pectin degradation; (ii) to determine the best combination of the fining agents to obtain a clarified by-product through monitoring physical chemical parameters (flocculating ability and product transmittance); and (iii) to evaluate the flotation process and the effects of bentonite concentration (500, 1.000 and 1.500 mg L-juice⁻¹) and saturation pressure (490, 680 and 880 kPa) by determining the degree of clarification through monitoring the product transmittance and by determining the flotation rate (and phase separation) through measurements of volumetric fractions of the separated phases (clarified, floated and sediment) over time during the flotation and phase separation processes. Both untreated and clarified juices were analyzed for soluble and insoluble solid contents, pH, total titratable acidity, pulp content, transmittance, color (parameters L*, a* and b*), protein and pectin contents, sodium, hesperidine, polyphenols and bioflavonoids. The results indicates a purified poligalacturonase as the adequate for the enzyme treatment in 1 hour, 45°C, with 0,05 mL L-juice⁻¹ concentration to completely hydrolyse pectin. For the fining agents, concentrations of 0,15 mL L-juice⁻¹ and 100 mg L-juice⁻¹ were obtained, respectively for silica sol and hydrolyzed collagen. The results for the flotation process with compressed air with fining agents showed to be very effective for the clarification of the core wash juice derived from orange processing, since very high levels were achieved for transmittance 94,4% (490 kPa/1.500 mg L-juice⁻¹ of bentonite) and luminosity (color parameter L*), 96,95 (880 kPa/1.500 mg L-juice⁻¹ of bentonite). The kinetics investigation conducted resulted in initial flotation rate, varying from 6,92 to 11,78 mL min⁻¹. The results also gave some insights on the effects of pressure and bentonite concentration, suggesting that, within the range of the experimental conditions, at high pressures, there is a higher amount of dissolved air in the juice, which transfer less

energy to formation of micro-bubbles, and the bentonite phase exerting less influence in the flotation/separation process than the pressure. At low pressures, bentonite concentration has a greater influence in the clarification.

KEY WORDS: enzymes – industrial applications, orange juice – industry, pectic enzymes, flotation, fining agents, clarification, core-wash, fruit juices.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – Exportações brasileiras de suco concentrado de laranja.....	21
FIGURA 2 - Fluxograma do processamento da laranja, com destaque para a etapa de extração e para o subproduto utilizado neste estudo	24
FIGURA 3 - Estrutura da molécula de pectina. Somente o principal componente das pectinas, ácido galacturônico parcialmente esterificado, está apresentado.	31
FIGURA 4 - Distribuição das porções de pectina na laranja	31
FIGURA 5 - Reação de esterificação dos ácidos galacturônicos	33
FIGURA 6 – Esquema do mecanismo de formação do complexo pectina-proteína.....	35
FIGURA 7 - Modo de ação das enzimas pectinolíticas.....	36
FIGURA 8 – Fenômeno de captura de partículas de diâmetro d_p , por bolhas de diâmetro d_b dentro de um raio crítico r_c	47
FIGURA 9 – Fenômenos de colisão e adesão (1), agregação e nucleação (2), formação dos flocos (3) e, captura de partículas e agregados por microbolhas (4).....	48
FIGURA 10 - Tubo de ensaio com teste de álcool para verificar a ocorrência da degradação enzimática da pectina	54
FIGURA 11 – Esquema da proposta inicial para aplicação de metodologia da Prova de Excesso ou Insuficiência de Clarificação	57
FIGURA 12 – Esquema da metodologia da Prova de Excesso de Clarificação e Análise de Transmitância adotadas para definição das dosagens de colágeno hidrolisado e de sílica sol.....	62
FIGURA 13 – Fotografia do flotador de bancada usado nos experimentos.....	63
FIGURA 14 – Fotografia do agitador com o flotador acoplado.....	63
FIGURA 15 - Esquema do flotador de bancada usado nos experimentos	64
FIGURA 16 - Esquema do flotador de bancada, com destaque para as dimensões, manômetro e válvula instalada	64

FIGURA 17 - Esquema do agitador com o flotador acoplado e seta indicativa do movimento.....	65
FIGURA 18 – Ensaios à pressão de 290 kPa, mostrando separação de fases após 20 minutos (funil de separação à esquerda) e com 40 minutos de flotação (à direita).....	68
FIGURA 19 – Ácido tânico em diferentes concentrações indicando os resultados de sua reação com o colágeno hidrolisado	79
FIGURA 20 – Prova de Excesso de Clarificação.....	79
FIGURA 21 – Fotografia das flotações dos experimentos 1, 4 e 7.....	83
FIGURA 22 – Fotografia da flotação do experimento 9, com 9 minutos e 1:12 horas.....	83
FIGURA 23 - Resultados das frações volumétricas de clarificado (a) Experimento 2 (490 kPa, 1.000 mg L ⁻¹ de bentonita) (b) Experimento 3 (490 kPa, 1.500 mg L ⁻¹ de bentonita).....	85
FIGURA 24 - Resultados das frações volumétricas de clarificado (a) Experimento 4 (680 kPa, 500 mg L ⁻¹ de bentonita). (b) Experimento 5 (680 kPa, 1.000 mg L ⁻¹ de bentonita). (c) Experimento 6 (680 kPa, 1.500 mg L ⁻¹ de bentonita).....	86
FIGURA 25 - Resultados das frações volumétricas de clarificado (a) Experimento 7 (880 kPa, 500 ppm de bentonita). (b) Experimento 8 (880 kPa, 1.000 ppm de bentonita). (c) Experimento 9 (880 kPa, 1.500 ppm de bentonita).....	87
FIGURA 26 - Resultados dos percentuais de volume de clarificado obtido.....	90
FIGURA 27 - Fotografia das flotações dos experimentos 1, 3 e 9	91
FIGURA 28 - Resultados dos percentuais de sedimentado obtido	92
FIGURA 29 - Resultados de transmitância em função do tempo de separação, para cada teor de bentonita dosado (a) Concentração de Bentonita: 1.000 mg L ⁻¹ (b) Concentração de Bentonita: 1.500 mg L ⁻¹	94
FIGURA 30 - Resultados de transmitância em função do tempo de separação, agrupados para cada pressão de flotação (a) 490 kPa (b) 680 kPa (c) 880 kPa	95
FIGURA 31 - Fotografia da flotação em andamento, com destaque para desprendimento de partículas	96
FIGURA 32 - Resultados dos sólidos insolúveis totais no produto final clarificado	100

FIGURA 33 - Teores de bioflavonóides e polifenóis obtidos no produto final clarificado, em função das condições de flotação (a) Pressão: 490 kPa (b) Pressão: 680 kPa (c) Pressão: 880 kPa	102
FIGURA 34 - Teores de hesperidina no produto final clarificado, em função das condições de flotação (a) Pressão: 490 kPa (b) Pressão: 680 kPa (c) Pressão: 880 kPa.....	103
FIGURA 35 - Resultados para o teor de sódio no produto final clarificado	104
FIGURA 36 - Sódio dissolvido no produto final clarificado em função do teor de bentonita dosado e pressão de flotação.....	107
FIGURA 37 – Imagens do suco não tratado diluído a 12° Brix e dos produtos finais clarificados obtidos.....	108

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Exportações brasileiras de suco de laranja concentrado nas últimas 8 safras (em percentual do volume total exportado).....	22
TABELA 2 - Aplicação do processo de flotação em diversas áreas	44
TABELA 3 - Sistemas de geração de bolhas e diâmetro das mesmas	51
TABELA 4 - Características das enzimas testadas	54
TABELA 5 - Tratamento de soluções de ácido tânico com agentes clarificantes	58
TABELA 6 - Tratamento com agentes clarificantes usando-se soluções de ácido tânico e colágeno hidrolisado a 5,0% (m/v).....	59
TABELA 7 - Tratamento com agentes clarificantes usando-se pré-filtração a vácuo	59
TABELA 8 - Tratamento com agentes clarificantes usando-se centrifugação	60
TABELA 9 - Tratamento com agentes clarificantes: Prova de Insuficiência de Clarificação.....	60
TABELA 10 - Planejamento experimental para a flotação	68
TABELA 11 - Caracterização do suco <i>core wash</i>	76
TABELA 12 - Resultados dos ensaios de enzimação	78
TABELA 13 – Resultados do tratamento com colágeno hidrolisado	81
TABELA 14 – Resultados do tratamento com sílica sol e 100 mg L-suco ⁻¹ de colágeno hidrolisado	82
TABELA 15 - Resultados da cinética de flotação/separação das fases	88
TABELA 16 - Resultados da cinética de flotação/separação das fases agrupados em função da pressão.....	89
TABELA 17 - Frações volumétricas das fases: sedimentado, clarificado e flotado	90
TABELA 18 - Efeito da pressão no flotador na concentração de ar dissolvido.....	92
TABELA 19 - Transmitância ao final do processo de flotação/separação (1,5 horas)	97
TABELA 20 - Resultados das análises físico-químicas do produto final clarificado	98
TABELA 21 - Resultado da redução do teor de sólidos solúveis, acidez e pH em relação ao produto não tratado	99
TABELA 22 - Aumento dos teores de hesperidina, bioflavonóides e polifenóis quando comparados com o suco sem tratamento	104
TABELA 23 - Teor de sódio nas soluções adicionadas no tratamento	105
TABELA 24 - Valores calculados teóricos para o sódio no produto final clarificado.....	105

TABELA 25 - Resultados para ΔE no produto final clarificado.....	108
--	-----

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	17
2 OBJETIVOS	20
3 CONTEXTO E JUSTIFICATIVA	21
3.1 O mercado de suco de laranja e outros sucos e bebidas	21
3.2 Processamento da laranja para produção de suco e subprodutos	22
3.3 Clarificação do suco <i>core wash</i>	26
4 REVISÃO DA LITERATURA	28
4.1 Processos de clarificação empregados em sucos de frutas	28
4.2 Origem e características das substâncias pécticas presentes no suco	30
4.3 Papel das enzimas na clarificação dos sucos de frutas	33
4.4 Classificação das enzimas pectinolíticas	34
4.5 Agentes clarificantes empregados em clarificação de sucos de frutas.....	37
4.5.1 Modo de ação da gelatina e do colágeno hidrolisado	39
4.5.2 Modo de ação da bentonita	41
4.5.3 Modo de ação da sílica sol.....	42
4.6 O processo de separação por flotação.....	42
4.6.1 Aplicações do processo de flotação	43
4.6.2 Princípios da flotação	45
4.6.3 Modos de condução da operação de flotação	49
5 MATERIAIS E MÉTODOS	52
5.1 Caracterização da matéria-prima a ser clarificada.....	52
5.2 Tratamento Enzimático	53
5.3 Tratamento com colágeno hidrolisado e sílica sol	55
5.3.1 Capacidade Floculante.....	55
5.3.2 Determinação das dosagens de colágeno hidrolisado e sílica sol.....	61
5.4 Tratamento por flotação auxiliada pelos agentes clarificantes	61
5.4.1 Determinação do tipo, faixa de concentração e preparo da bentonita	65
5.4.2 Determinação da faixa de pressão na flotação	67
5.4.3 Procedimento de flotação com o uso de agentes clarificantes.....	68
5.4.3.1 Cinética de flotação/separação	70
5.4.3.2 Rendimento do processo de flotação/separação	71

5.4.3.3 Monitoramento do grau de clarificação.....	72
5.5 Métodos analíticos usados para a caracterização do suco <i>core wash</i> e análise do produto final clarificado	72
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO	76
6.1 Caracterização do suco <i>core wash</i>	76
6.2 Tratamento enzimático	77
6.3 Tratamento com colágeno hidrolisado e sílica sol	78
6.3.1 Capacidade Flocculante.....	78
6.3.2 Determinação das dosagens de colágeno hidrolisado e sílica sol.....	81
6.4 Clarificação por flotação auxiliada pelos agentes clarificantes.....	82
6.4.1 Cinética de flotação/separação	83
6.4.2 Rendimento do processo de flotação	89
6.4.3 Monitoramento do grau de clarificação	92
6.4.4 Análises físico-químicas do produto final clarificado	97
7 CONCLUSÕES.....	109
8 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	110
9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	111

1 INTRODUÇÃO

A produção de frutas no mundo mostra grande evolução, perfazendo um caminho de crescimento e dentre elas, a laranja se destaca como um produto importante para a agricultura e economia brasileira. Em 2007, o Brasil foi o responsável por 91% das laranjas produzidas na América do Sul, o que corresponde a 29% da produção mundial dessa fruta (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, 2009).

Os sucos de frutas são os derivados mais importantes de várias frutas, assim como da laranja, e são bem aceitos pelo sabor e suas propriedades nutritivas. De acordo com as características físico-químicas de cada fruta, os sucos apresentam diferentes graus de turvação natural. A turbidez e os sedimentos dos sucos são devidos à presença de materiais insolúveis, como os fragmentos celulares diretamente provenientes do tecido polposos, pectinas, amidos, polimerização de fenóis ou componentes não totalmente dissolvidos. Esses materiais insolúveis, responsáveis por muitas das características de sabor, aroma e cor do suco. Dependendo do tipo e exigências do mercado consumidor, se torna necessária a obtenção de sucos clarificados e totalmente isentos de turvação ou depósitos (LEA, 1995; BORGES, 1998).

O Brasil possui um grande potencial de consumo de suco de frutas e se verifica desde 2005 uma tendência de aumento desse tipo de produto (PALLET et al., 2005). De 2007 para 2008, por exemplo, as vendas de suco de frutas expandiram o dobro do mercado de refrigerantes (PIRILLO; SABIO, 2009). Cada vez mais as pessoas buscam por uma alimentação saudável, o que colabora para o aumento do consumo de bebidas consideradas, pelos consumidores, naturais. O consumo de sucos clarificados e a utilização de polpas concentradas demonstram uma nova alternativa para o processamento de sucos, sucos mistos, néctares e bebidas à base de frutas (SAINZ et al., 2007). Este mercado tem apresentado grande expansão, aliado ao uso potencial para consumo direto, os sucos clarificados também têm grande aplicação como constituintes em diversos produtos. O mercado de refrescos e bebidas prontas para consumo, repositores eletrolíticos, refrigerantes carbonatados, águas aromatizadas, *coolers* e bebidas isotônicas cresceu em ritmo intenso, para os quais são necessários sucos clarificados e novos sabores (PIRILLO; SABIO, 2009; WOLKOFF et al., 2003).

A aceitação de sucos tropicais no mercado internacional requer melhorias nas técnicas de processamento, como por exemplo, a inclusão da etapa de clarificação, já que,

uma vez límpido, ele poderá ser matéria-prima de melhor qualidade permitindo maior eficiência dos processos de concentração, evitando problemas de entupimento em trocadores de calor e incrustações em tubulações que diminuam a troca térmica nos equipamentos.

Em paralelo a esse cenário, no processamento da laranja, além do suco primário, são produzidos sucos secundários denominados de *pulp wash* e *core wash*, obtidos de sólidos solúveis recuperados da polpa e membranas da fruta separados na etapa de extração e/ou filtração do suco; além de óleos cítricos e farelo de polpa cítrica. O *core wash* é a denominação do suco proveniente da extração com água dos sólidos solúveis contidos na porção central da laranja, composta basicamente de membranas e sementes. Este material possui em torno de 5% de sólidos solúveis e é rico em limonina, maior responsável pelo amargor em frutas cítricas. Esse suco recuperado é considerado no setor cítrico como secundário, e possui alta opacidade e elevado amargor (KIMBALL, 1999). O *core wash* também é composto por substâncias pécticas, materiais insolúveis e outros materiais provenientes da casca da laranja, e que precisam ser removidos visando seu uso em aplicações industriais nas quais se faz necessário um produto clarificado. Normalmente, este suco é concentrado a 40% de sólidos solúveis e comercializado com o propósito de ser utilizado como agente de turvação em bebidas. Essa aplicação requer o tratamento do produto em processos de resina de troca iônica, para remoção dos compostos de amargor. Para tanto, o produto deve ter seus teores de polpa e de materiais insolúveis reduzidos a 1 - 3 %, podendo entupir a coluna de resina, diminuindo a vida útil da mesma, devido à necessidade de maior número de regenerações. Este subproduto clarificado pode ser comercializado para uso em sucos e bebidas contendo sólidos cítricos.

Este trabalho se propôs a estudar formas de recuperação dos sólidos cítricos existentes na membrana da laranja na forma de um subproduto clarificado, concentrado ou não, com o propósito de aproveitar esse resíduo de maneira mais nobre e de forma a atender o mercado em expansão de bebidas a base de sucos de frutas, em formulações que exigem sucos clarificados. Para se obter o produto clarificado foram utilizadas enzimas pectinolíticas e agentes clarificantes (sílica sol, bentonita e colágeno hidrolisado), associados com o processo de separação por flotação por injeção de ar comprimido. A flotação foi utilizada para segregar o material floculado com a utilização dos agentes clarificantes. Ela se constitui no processo de separação de partículas, agregados formados pelos agentes clarificantes, por adesão a bolhas de um gás, normalmente ar, e incorporação delas no interior de flocos ou por simples arraste hidráulico. As unidades (flocos) formadas por bolhas e pelas partículas apresentam densidade aparente menor do que o meio aquoso e flutam até a superfície de um reator ou interface

líquido/ar, de onde são removidos. Assim, o processo consiste em várias etapas, dentre as quais se destacam a produção de pequenas bolhas por injeção de ar no interior do líquido/suspensão, a sua fixação às partículas, a ascensão dos flocos por diferença de densidade ou pelo efeito do empuxo e posterior separação física entre o flotado e o clarificado.

2 OBJETIVOS

O presente trabalho teve como objetivo geral estudar a recuperação de sólidos solúveis existentes em suco *core wash*, produto proveniente do processamento da laranja, através do uso de enzimas pectinolíticas e agentes clarificantes (bentonita, sílica sol e colágeno hidrolisado), associados ao processo de separação por flotação com injeção de ar comprimido; produzindo dessa forma, um subproduto clarificado contendo sólidos solúveis recuperados da membrana central da laranja.

São objetivos específicos desse trabalho:

- Determinar a condição ótima para o tratamento enzimático visando degradar a pectina presente no suco *core wash*, permitindo a posterior clarificação do mesmo;
- Determinar a melhor combinação de agentes clarificantes sílica sol e colágeno hidrolisado para a obtenção de um produto clarificado, com o monitoramento de seus parâmetros físico-químicos;
- Avaliar o processo de flotação com diferentes concentrações de bentonita e pressões na clarificação do suco, no rendimento e na cinética desta flotação;
- Analisar o produto clarificado obtido quanto aos seus parâmetros físico-químicos: sólidos solúveis e insolúveis, pH, acidez total titulável, transmitância, cor, polpa sedimentável, proteína, sódio, hesperidina, bioflavonóides e polifenóis;

3 CONTEXTO E JUSTIFICATIVA

3.1 O mercado de suco de laranja e outros sucos e bebidas

O Brasil é o maior exportador de suco de laranja concentrado e congelado (Tabela 1) tendo como mercados alvo os EUA e a Europa. Como a produção de laranja e suco nos Estados Unidos se destina a abastecer seu mercado interno, o Brasil transformou-se no maior exportador mundial de suco de laranja, atendendo em 2006 cerca de 50% da demanda e 75% das transações internacionais. Foi o terceiro maior produtor mundial de frutas e o primeiro de suco de laranja na safra 2008/2009, quando exportou US\$ 1,83 bilhão (FOB) de suco de laranja (BRASIL, 2009). No momento, não há nenhum outro produto industrializado onde a presença do Brasil seja tão marcante e ele vem aumentando a quantidade de suco exportado, mas até o momento o maior volume exportado foi durante a safra 2004/2005, como pode ser verificado na Figura 1 (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS EXPORTADORES DE CITRUS, 2008).

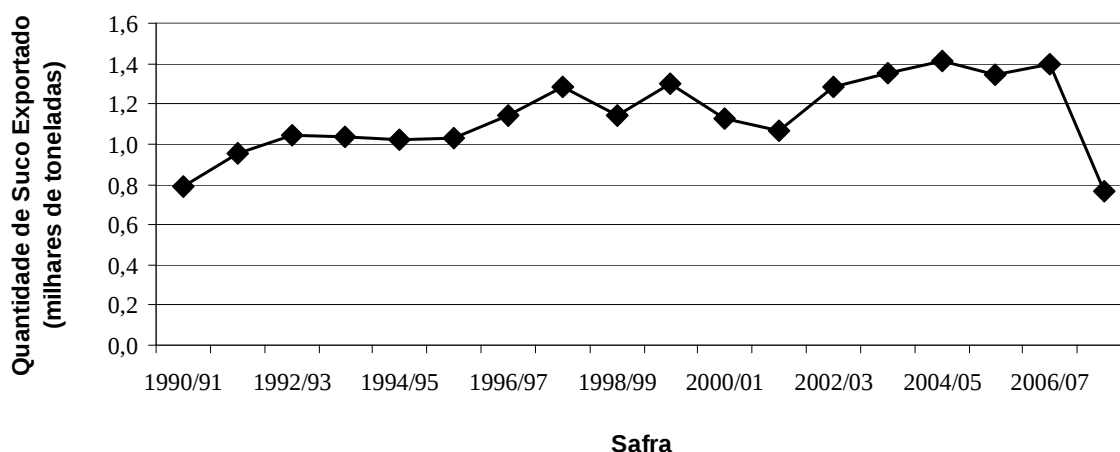


FIGURA 1 - Exportações brasileiras de suco concentrado de laranja (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS EXPORTADORES DE CITRUS, 2008)

O mercado de bebidas e sucos é crescente, tendo em vista o consumo *per capita* de cerca de 700 litros de líquidos por ano, dos quais aproximadamente 150 litros são de água enquanto os 550 litros restantes correspondem a bebidas como sucos de frutas, bebidas lácteas, chás, isotônicos, água mineral e refrigerantes (SÁ; CAIXETA FILHO, 2002). No Brasil, em 2008 o setor de sucos e néctares de frutas prontas para beber faturou US\$ 1,9

bilhão com a venda de 476 milhões de litros. Isso representa um aumento de 11% tanto da receita quanto do volume de 2007 para 2008 (PIRILLO; SABIO, 2009).

TABELA 1 - Exportações brasileiras de suco de laranja concentrado nas últimas 8 safras (em percentual do volume total exportado)

Safra	União Européia	NAFTA	Ásia	Mercosul	Outros
2000/01	70,4	18,5	8,2	0,4	2,5
2001/02	71,3	12,3	11,6	0,2	4,6
2002/03	67,5	18,0	9,8	0,1	4,6
2003/04	71,8	12,3	11,0	0,2	4,8
2004/05	69,4	15,1	10,5	0,1	4,9
2005/06	65,1	13,0	12,8	0,1	9,1
2006/07	64,2	17,7	9,7	0,2	8,1
2007/08	61,1	20,2	9,6	0,5	8,6

FONTE: Brasil, 2009.

Segundo dados de 2006, o consumo médio de suco de laranja pelos brasileiros é de 20 litros por habitante por ano, sendo que o suco industrializado representa pouco mais de 1 litro desse total (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS EXPORTADORES DE CITRUS, 2008). Nos maiores mercados, Estados Unidos e Europa, o consumo total de suco de laranja atinge quantidades semelhantes, 21 litros por habitante por ano, contudo a parcela de suco industrializado atinge cerca de 11 litros por habitante por ano. Há um grande potencial para o crescimento do consumo desse tipo de produto, o que está aliado a uma queda constante no consumo dos refrigerantes em função da busca crescente pelos consumidores por produtos considerados mais saudáveis (PIRILLO; SABIO, 2009).

3.2 Processamento da laranja para produção de suco e subprodutos

O processamento da laranja tem como objetivo principal a extração de seu suco, mas há a produção de subprodutos como os sucos secundários (*pulp wash* e *core wash*), óleos cítricos (óleo essencial, destilado e d'limoneno) e farelo de polpa cítrica. A produção do

suco e subprodutos é descrita a seguir, com uma descrição detalhada da etapa em que são extraídos com água os sólidos solúveis existentes na membrana central da laranja, sendo o suco obtido denominado de *core wash*, objeto de estudo deste trabalho. A descrição apresentada no fluxograma da Figura 2 está de acordo com o processo conduzido pela maior parte dos processadores industriais, e nela pode ser identificada a obtenção do suco *core wash*.

Na recepção a fruta é inspecionada visualmente por colaboradores treinados e sendo aprovada, é descarregada. O objetivo dessa inspeção é refugar as frutas que não estejam no estágio ideal de maturação, que apresentem ferimentos na casca como cortes e picadas de moscas e que não tenham as dimensões adequadas. O descarregamento dos caminhões é feito em uma rampa hidráulica e as frutas são transportadas com o auxílio de correias e elevadores de canecas para silos, onde permanecem armazenadas. Dos silos, a fruta é transportada por correias até um depósito de frutas que alimenta as extratoras, com o objetivo de se manter fluxo constante na extração.

As frutas são então transportadas por correias até a mesa de lavação onde são lavadas e sanitizadas com água, solução de ácido peracético e escovas mecânicas giratórias, para em seguida, passar pela mesa de escolha, na qual as frutas que apresentem problemas para a qualidade do suco são retiradas manualmente (DARROS-BARBOSA, 2006).

Por meio de correias, as frutas são enviadas às extratoras, onde são processadas com separação da casca, membrana, suco, emulsão (óleo essencial e água) e bagacilho (pedaços pequenos da casca enviados à extração do óleo). As extratoras mais comuns são constituídas de dois copos em forma de dedos que se interpenetram, comprimindo a laranja inteira. O copo inferior é dotado de um tubo através do qual escoar o suco. Esse tubo, constituído de uma tela perfurada e chamado de tubo coador, retém parte da polpa e demais partes sólidas, impedindo que elas sejam incorporadas ao suco. Um dispositivo comprime o material contido dentro deste tubo, completando a extração. Uma extratora deste tipo com 5 copos tem capacidade para processar até 550 frutas por minuto (BRADDOCK, 1999).

Ao cair nos copos, um pequeno disco na extremidade inferior da laranja é cortado, fazendo todo o interior da mesma passar pelo tubo coador, onde parte da fruta é comprimida, rompendo as pequenas bolsas que contém o suco. O líquido liberado nesse rompimento é então filtrado pelas perfurações existentes na parede do tubo coador (BRADDOCK, 1999). Em sua primeira fase de compressão gradual, os copos, ao se aproximarem, pressionam de leve a casca da fruta, originando o bagacilho contendo óleo. É na casca que se encontram os alvéolos carregados de óleo essencial cítrico que será

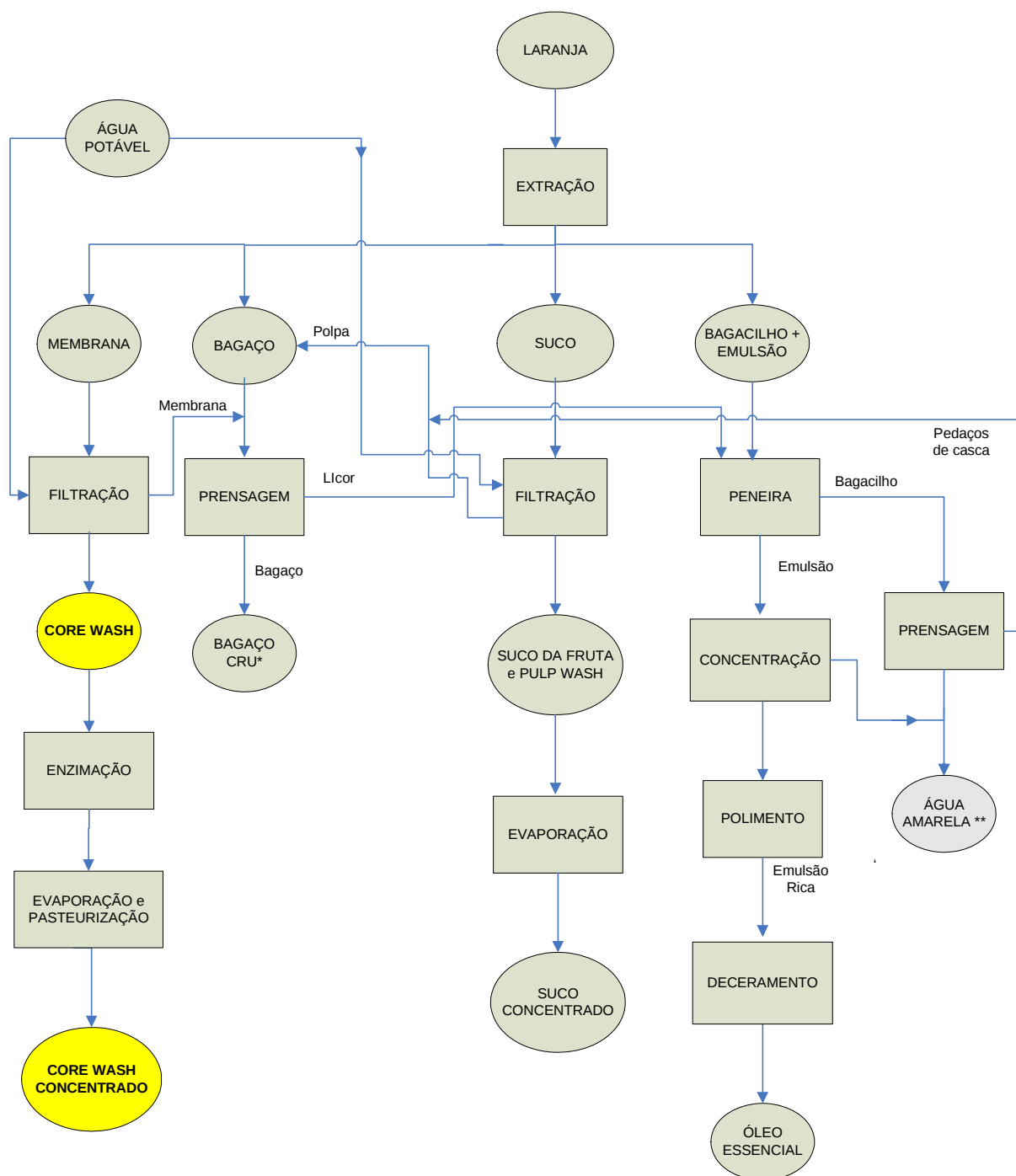


FIGURA 2 - Fluxograma do processamento da laranja, com destaque para a etapa de extração e para o subproduto utilizado neste estudo.

NOTA: * Bagaço cru é o material a ser direcionado ao processamento visando a produção do farelo de polpa cítrica ** Água Amarela é a fase líquida leve existente na emulsão de entrada da etapa de concentração do óleo essencial. Algumas empresas a adicionam juntamente ao *core wash* antes das etapas de enzimação e evaporação.

posteriormente separado a frio através de filtrações e centrifugações. Neste ponto, um jato de água é aspergido, arrastando o óleo. O bagacilho originado na extração é constituído por pequenos pedaços de casca e uma emulsão de água e óleo cítrico.

O material segregado no tubo coador pode ser incorporado à casca e ao bagaço ou ser processado em separado. Este material é constituído da porção central da fruta e pode ser lavado com água visando a recuperação dos sólidos contidos no mesmo e a ele é dado o nome de *core wash*, o qual após processamento constitui a matéria-prima para este trabalho. O material central da laranja é composto da membrana da fruta e sementes, possui alto teor de limonina, composto precursor do sabor amargo. Sucessivos estágios de extração dos sólidos solúveis existentes neste material com água em contra-corrente produz um suco com elevado amargor (DARROS-BARBOSA, 2006). Seu processamento consta basicamente de filtração, tratamento enzimático e concentração. Na filtração, o material sólido, sementes e membranas, é separado e direcionado a uma rosca transportadora juntamente com as cascas e bagaço que saem da extratora. O suco recuperado na filtração sofre um tratamento com enzimas pectinolíticas visando diminuir sua viscosidade, possibilitando a posterior concentração.

O suco extraído na extratora, que corresponde a cerca de 50% do peso da laranja, é direcionado a filtros, onde é filtrado em uma tela para separação da polpa, albedo, cascas pequenas e fragmentos menores. Normalmente, as indústrias operam com filtros em série. A polpa saída do primeiro filtro segue para o segundo onde sofre extração com água para recuperar a maior quantidade possível de sólidos solúveis, e assim sucessivamente numa operação em cascata em estágios. O suco filtrado obtido é denominado de *pulp wash* e segue com o suco extraído pela extratora para o tanque de alimentação do evaporador. A polpa que sai do último filtro é enviada à rosca transportadora de bagaço e é processada com a casca.

O suco natural, denominado de suco vivo, é então submetido a um tratamento térmico, pasteurização, cujo propósito é destruir os microorganismos que possam degradar ou alterar sua qualidade; e, principalmente inativar as enzimas responsáveis pela clarificação e geleificação do suco (KIMBALL, 1999). O processo de evaporação tem como vantagem reduzir o custo de transporte e facilitar o armazenamento do produto, além de lhe proporcionar certa estabilidade. Ao final do processo o suco concentrado e congelado se apresenta concentrado a aproximadamente 66°Brix.

Este suco é enviado então para tanques de aço-inox, com agitadores, e localizados em sala climatizada e temperatura de 5°C. Nestes tanques o produto é imediatamente resfriado, homogeneizado e padronizado, recebendo também a adição de óleo essencial e é posteriormente destinado ao armazenamento em câmaras frias.

3.3 Clarificação do suco *core wash*

O suco *core wash* possui fatores indesejáveis presentes, como alto conteúdo de limonóides (limonina), hesperidina, polifenóis, pectinas solúveis e componentes insolúveis resultantes das etapas de recuperação de sólidos, e que podem causar a perda de qualidade do produto ou redução na eficiência dos processos. Para seu tratamento são requeridos processos que envolvam, por exemplo, tratamento com enzimas pectinolíticas para redução da viscosidade excessiva, centrifugação para remoção de polpas e óleos, ultrafiltração e adsorção em resinas de troca iônica para remoção de polifenóis e compostos responsáveis pelo amargor. A ultrafiltração configura-se também em interessante processo para a obtenção de sucos clarificados (DARROS-BARBOSA, 2006).

O processo enzimático aliado à filtração permite uma grande redução no conteúdo de polpa, diminuindo a viscosidade do produto, facilitando sua concentração e evitando problemas de bombeamento. Este suco é mantido nas temperaturas ótimas para atuação das enzimas, normalmente em torno de 45°C, durante horas, o que implica em deterioração do mesmo, através do desenvolvimento de compostos provenientes de fermentação, os quais interferem no sabor e no odor do produto final. Isto torna necessária a adição de conservantes, que é cada vez mais indesejada pelos consumidores. Muitos processadores de alimentos, que não de sucos, utilizam equipamentos projetados para o leite e para outros produtos isentos de polpa, os quais podem ter problemas com entupimentos, provocando a busca por sucos com baixos teores de polpa.

O processo de centrifugação reduz o teor de polpa de forma eficiente, porém não consegue remover os compostos que contribuem para a turbidez e tem custo relativamente elevado. Outro problema da centrifugação são as descargas periódicas que visam eliminar o material mais pesado coletado, quando uma parte de suco é perdida com a polpa, reduzindo o rendimento da instalação.

O processo de ultrafiltração em conjunto com a adsorção em resinas de troca iônica; é efetivo para diminuir os teores de sólidos sedimentáveis e da turbidez, contudo com investimento e custo operacional elevados. As membranas utilizadas no sistema de ultrafiltração assim como, a resina no de adsorção, são insumos com custos elevados. Além disso, a manutenção dos mesmos exige lavações e regenerações com soda cáustica e ácidos, que além de onerosas são operacionalmente trabalhosas. Nestes sistemas, os problemas com

entupimento são também muito comuns e as constantes limpezas reduzem a vida útil desses equipamentos.

É necessário um processo não oneroso e que clarifique o suco *core wash*, reduzindo seus teores de polpa e posterior turvação. O processo de clarificação com a utilização de agentes clarificantes em conjunto com flotação por ar comprimido aparece como uma possibilidade interessante.

4 REVISÃO DA LITERATURA

4.1 Processos de clarificação empregados em sucos de frutas

A clarificação de sucos de frutas geralmente é realizada através de processos físicos, químicos e enzimáticos. A polpa é normalmente removida dos sucos cítricos por processos físicos com o uso de centrífugas clarificadoras. A clarificação do suco também pode ser alcançada através de ultrafiltração por membranas, sendo que as normalmente recomendadas são as de polissulfona. Elas são utilizadas para reduzir a viscosidade do produto, assim como para clarificar o suco antes do seu tratamento em resinas de troca iônica, que necessitam de um produto sem a presença de sólidos insolúveis e com baixo teor de polpa. O uso de membranas também acarreta problemas de contaminação microbiológica devido a recirculação do produto (LEA, 1995).

O suco com baixo teor de polpa também pode passar por clarificação adicional visando remover a turbidez ou materiais suspensos do produto. Após a retirada da polpa, esses sucos são aquecidos a 40°C e tratados com enzimas. Contudo, o processo de clarificação utilizando somente enzimas, geralmente demora mais de 3 horas, o que torna necessário o uso de conservantes. Agentes clarificantes devem ser utilizados para abreviar esse tratamento e evitar o uso de conservantes. Os agentes clarificantes através de neutralização eletrostática dos compostos que causam a turbidez no produto, promovem a formação de flocos insolúveis (BRASIL; MAIA; FIGUEIREDO, 1995); porém, para a sua utilização é necessário o pré-tratamento do produto com enzimas pectinolíticas objetivando-se degradar a pectina presente. Dessa forma, distinguem-se três fases na clarificação de sucos com tais agentes: (i) despectinização, com o uso de enzimas pectinolíticas, (ii) floculação, com o uso dos agentes clarificantes e (iii) separação do floculado, por sedimentação ou flotação.

A utilização de enzimas pectinolíticas e agentes clarificantes é de vital importância para a obtenção de maior rendimento, clarificação e melhoria nos processos de filtração, além da obtenção de sucos clarificados com maior qualidade quando direcionados para o processo de concentração (PILNIK; VORANGE, 1989). A turvação dos sucos de frutas é dificilmente removida por filtração, porque esses sucos contêm bastante material mantido em suspensão pela ação coloidal das pectinas da fruta original. Ao contrário, o suco de frutas

previamente tratado por enzimas pécticas é facilmente clarificado por filtração, sendo que a adição destas enzimas não altera a cor ou o sabor do produto final (PARK; PAPINE, 1968).

O emprego de enzimas em associação com gelatina, sílica sol e bentonita, como agentes clarificantes, confere excelentes resultados na obtenção de sucos tropicais clarificados (STROHM; WUCHERFENNING; OTTO; 1987). A utilização destes agentes clarificantes foi reportado por Amerine et al. (1976), Chan; Chiang (1992) e Chang et al. (1994). Bentonitas são geralmente utilizadas com a gelatina em processos de clarificação, contudo, em casos como na clarificação do suco de limão, o uso de somente da bentonita também é aplicado (BEVERIDGE et al., 1986).

Após a clarificação do produto com os agentes clarificantes há formação de flocos insolúveis, basicamente compostos pelos precursores da turbidez no produto e pelos agentes clarificantes adicionados. Estes flocos devem ser removidos visando finalizar a clarificação, por sedimentação ou flotação, dependendo do processo que se emprega. A maior parte das aplicações industriais atualmente utilizadas é por clarificação através de sedimentação. Os agentes clarificantes são adicionados ao produto e deixados em repouso visando a atuação dos mesmos. Nestes casos, a remoção dos flocos deve ser feita por filtração ou esgotamento, com descarte do fundo dos tanques.

Outro processo que vem sendo aplicado em clarificação de sucos de frutas, embora existam poucos trabalhos científicos sobre o assunto aplicado à área alimentícia, é o processo de flotação por gás. Neste, um gás, geralmente ar comprimido, é adicionado com os agentes clarificantes, formando bolhas dissolvidas no produto que arrastam os flocos formados e, devido à diferença de densidade, flutam. Neste caso, a separação dos flocos pode ser realizada por raspagem mecânica da superfície do recipiente que contém o produto tratado ou por esgotamento do produto clarificado, pela parte inferior do mesmo.

A vantagem da separação do floculado por flotação sobre a sedimentação é que as partículas finas e menores, que se sedimentam vagarosamente, podem ser removidas por completo em curto espaço de tempo (METACALF; EDDY, 1991), tornando o processo por flotação mais eficiente quando se trabalha com partículas finas. Sindou et al. (2008) concluíram que o uso de flotação utilizando-se ar comprimido como agente espumante, em conjunto com enzimas pectinolíticas, pode ser uma tecnologia promissora para a produção de vinhos e bebidas a base de suco de laranja clarificado de boa qualidade.

4.2 Origem e características das substâncias pécticas presentes no suco

Muitos tipos de frutos de importância nutricional ou industrial contêm pectina, denominada também de ácido polimetilgalacturônico, como componente da estrutura das paredes das células dos tecidos vegetais. A pectina em sua forma nativa é localizada na parede celular e pode ser interligada com outros polissacarídeos estruturais e proteínas para formar protopectina insolúvel. Ela é um polímero hidrofílico pertencente ao grupo dos hidrocolóides. A pectina apresenta uma variedade de moléculas de carboidratos, contendo blocos de ácidos galacturônicos parcialmente esterificados com grupos metoxila e blocos com muitas outras moléculas de açúcar em pequenas quantidades, em uma estrutura altamente ramificada. O ácido péctico ou ácido poligalacturônico é o resultado da desmetoxilação da pectina (INTERNATIONAL PECTIN PRODUCERS ASSOCIATION, 2008).

O termo pectina indica uma classe de componentes com alto peso molecular, variando de 100.000 a 200.000, sendo 150 a 1.500 de unidades de ácido galacturônico unidos através de ligações glicosídicas $\alpha(1 \rightarrow 4)$, Figura 3, com cadeias laterais de ramanose, arabinanas, galactanas e xilose. Muitos dos grupos carboxila são esterificados com metanol para formar grupos metoxila. Estes grupos metoxila bloqueiam muitas reações, incluindo as de polimerização ou gelatinização. Sendo assim, a proporção de grupos carboxílicos que estão na forma esterificada, em relação ao total de grupos carboxílicos presentes na estrutura, é denominado grau de metoxilação ou grau de esterificação (DE – do inglês, *degree of esterification*), e pode ser tomado como uma medida da habilidade de geleificação da pectina, que varia de 0 a 100%. Por exemplo, um DE de 0,6 indica 60% de esterificação. As pectinas consideradas com alto grau de metoxilação apresentam DE maior que 43%. As pectinas presentes nas frutas apresentam normalmente mais de 50% das suas unidades de carboidratos esterificadas, e portanto, fazem parte do grupo das pectinas com alto grau de metoxilação (TRIBESS, 2003).

No fruto imaturo, a pectina está presente numa forma insolúvel e é a responsável por sua firmeza neste estágio. Ao longo do amadurecimento, a pectina é parcialmente degradada pelas enzimas pectinolíticas, tornando a fruta mais macia. Neste ponto, a fruta pode ter o seu suco extraído, com algumas das pectinas passando para o mesmo, tornando-o mais viscoso e de difícil clarificação. Em outros casos, a presença de pectina pode dificultar a extração, diminuindo o rendimento em suco, dependendo do tipo de fruta a ser

processada. O conteúdo de metoxila da pectina cítrica normalmente cai com a progressão da maturação (ALKORTA et al., 1998).

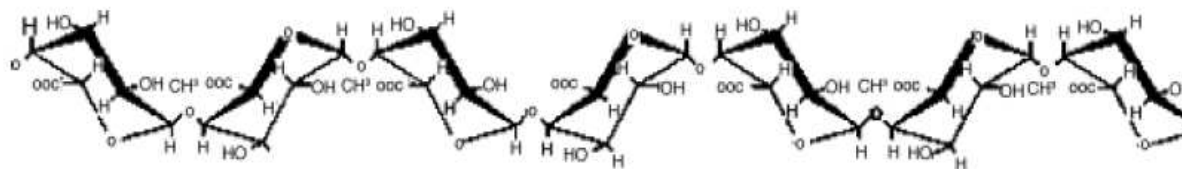


FIGURA 3 - Estrutura da molécula de pectina. Somente o principal componente das pectinas, ácido galacturônico parcialmente esterificado, está apresentado (ALKORTA et al., 1998)

As substâncias pécticas estão distribuídas em toda fruta. A maior concentração está localizada na casca, flavedo e albedo (20 – 30% da matéria seca), e com uma menor quantidade presente no suco (3 – 6% da matéria seca). Os componentes pécticos presentes na laranja apresentam-se na seguinte proporção, com os valores expressos em miligrama de ácido anidrogacturônico por litro da fruta integral: total de 859, protopectina (porção insolúvel), 556; pectina solúvel, 118; e pectatos insolúveis, 185 (REED; HENDRIX; HENDRIX, 1986). As porcentagens em relação ao total existente na fruta são apresentados na Figura 4.

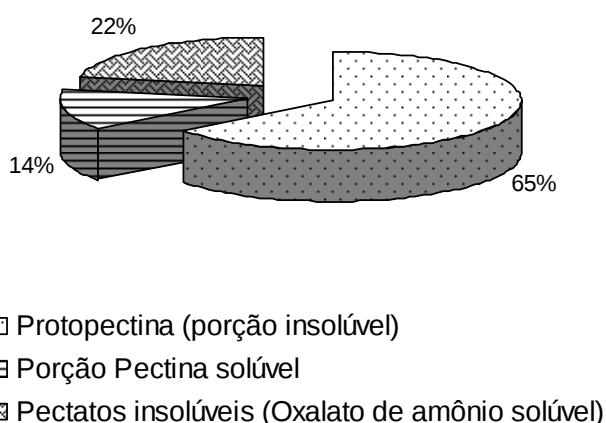


FIGURA 4 - Distribuição das porções de pectina na laranja

O suco de laranja propriamente dito está armazenado nas vesículas contendo o suco existente na fruta, onde ele existe livre de turvação. No momento em que as vesículas são rompidas, durante a extração, os componentes com alto peso molecular existentes nas

organelas e no citoplasma das células de suco são liberados e ficam suspensos, juntamente com membranas e pectina. Este material em suspensão coloidal é que fornece ao suco de laranja o aspecto turvo e ele é formada por 30% de proteínas, 20% de hesperidina, 15% de celulose e hemicelulose e 5% de pectina, conforme Kimball (1999). Polydera; Stoforos; Taoukis (2003) complementam que a porção turva do suco de laranja é composta por partículas de pectina, celulose, hemicelulose, proteínas e lipídios em suspensão e finamente divididas. Rai et al. (2006) reafirmam que o suco fresco de laranja é uma mistura coloidal de sólidos suspensos e solúveis, contendo solutos com baixo peso molecular; tais como açúcares, ácidos orgânicos, pigmentos, vitaminas, etc., e de alto peso molecular tais como enzimas, proteínas, substâncias pécticas. O suco contém uma variedade de substâncias particuladas insolúveis, que se encontram finamente divididas ($<2\mu\text{m}$) e constituem a turbidez estável (REED; HENDRIX; HENDRIX, 1986).

A maioria dos sucos de frutas, tais como o de maçã, uva e caju são preferidos pelos consumidores na forma clarificada. Contudo, o suco de laranja é preferido com polpa e com certa opacidade, obtida através da retenção de substâncias suspensas no suco fresco, que é livre da formação de aglomerados gelatinosos. A coloração opaca natural do suco de laranja é atribuída ao material coloidal existente na própria fruta. As partículas sólidas da fruta, que são principalmente as paredes das vesículas de suco e material das membranas, conferem a turbidez e as características sensoriais do suco de laranja fornecendo-lhe aparência natural (KIMBALL, 1999).

A nuvem de substâncias suspensas é retida e a formação de aglomerados gelatinosos é prevenida através da proteção da pectina naturalmente encontrada no suco extraído, da degradação e da desesterificação enzimática causada pela pectinesterase (PE). A pectina solúvel atua como um colóide protetor e quando a mesma é parcialmente hidrolisada permite que partículas insolúveis e finamente divididas floculem. O suco de laranja contém quantidade suficiente de PE capaz de desmetoxilar a pectina durante e após o processo de extração, provocando a perda da turbidez natural do suco (ROUSE; ATKINS, 1952). A pectinesterase, naturalmente presente no suco, é inativada nas etapas de pasteurização e evaporação.

As proteínas são originadas principalmente das organelas e do citoplasma das vesículas de suco, tais como as mitocôndrias. O material semi-solúvel da membrana é tido como o responsável pela celulose e hemicelulose presente na porção turva. Hesperidina, um composto flavonóide existente na laranja, se mantém em uma forma solúvel juntamente com os vacúolos de suco intactos. Contudo, durante a extração do suco, reações ocorrem

transformando-a em insolúvel e induzindo a precipitação, o que retira a turbidez do suco (KIMBALL, 1999).

Segundo Klavons et al. (1994) citado por Kimball (1999), existem basicamente dois tipos de reações que resultam na gelatinização ou na perda de turvação dos sucos cítricos. Uma das reações é a reação de esterificação reversível, catalizada por ácido ou base, dos grupos carboxílicos dos ácidos galacturônicos presentes na pectina conforme apresentada na Figura 5.

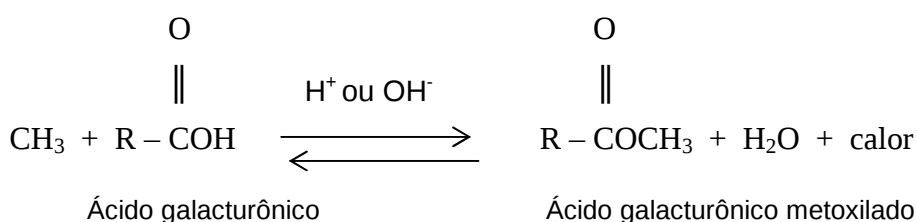


FIGURA 5 - Reação de esterificação dos ácidos galacturônicos

4.3 Papel das enzimas na clarificação dos sucos de frutas

A aplicação de enzimas no processamento de uvas, maçãs, peras e outras frutas, é uma prática muito comum. A despectinização de sucos após a prensagem é necessária quando se quer obter um suco cristalino e prevenir a gelatinização durante a concentração ou conservação de sucos concentrados.

Uma das aplicações mais antigas e largamente usada das enzimas pectinolíticas é a clarificação do suco de frutas. A forma tradicional de preparo dos tais sucos é esmagando a fruta e prensando sua polpa. O suco da polpa prensada é um líquido viscoso com turbidez persistente e devida aos fragmentos das paredes das células das frutas e a partes complexadas de tais fragmentos com proteína citoplasmática. A adição de enzimas pectinolíticas diminui a viscosidade e faz com que as partículas turvas se agreguem em partículas maiores, que se sedimentam; sendo, portanto, removidas facilmente por centrifugação. A função das enzimas pectinolíticas nesse caso é hidrolisar a cadeia de pectina até sua eliminação total, causando a floculação do complexo pectina-proteína (CANTO, 1995; CHEIRSILP; UMSAKUL, 1994). A utilização de enzimas pectinolíticas facilita a clarificação, promovendo a dissolução da

protopectina, e a degradação da pectina solúvel e de polissacarídeos que provocam a turvação no suco (JANDA; DORREICH, 1989).

As enzimas pectinolíticas ajudam na hidrólise da pectina causando além da redução na viscosidade, um aumento significativo no rendimento dos sucos. Pectinesterase e poligalacturonase são enzimas pectinolíticas que liberam ácidos carboxílicos e ácidos galacturônicos durante o tratamento térmico, o que causa uma redução no pH da polpa (BASTOS et al., 2002). A pectinesterase promove a desmetoxilação parcial da pectina liberando alguns grupos de ácido galacturônico carregados negativamente. Estes grupos podem se combinar com cátions com forte capacidade de formar complexos, principalmente cálcio, e consequentemente formar flocos com fácil tendência à sedimentação; podendo ainda facilitar a etapa de filtração. Os ácidos liberados também podem se combinar com cátions com fraca capacidade complexante, levando à formação de flocos hidratados e relativamente estáveis, que podem formar uma névoa de pectina com as proteínas, que posteriormente poderão precipitar com o tratamento térmico. A poligalacturonase rompe as cadeias longas de pectina e reduz a viscosidade. A quebra destas cadeias muda a carga dos complexos proteína-pectina, levando à agregação destes em grandes partículas que se sedimentam facilmente, melhorando a filtração (VARNAM; SUTHERLAND, 1994).

O mecanismo de agregação das partículas tem início quando o núcleo da proteína que possui carga positiva é coberto pela molécula de pectina carregada negativamente, conforme apresentado na Figura 6. A degradação parcial da pectina pelas enzimas pectinolíticas resulta na agregação de partículas carregadas com cargas opostas. Em um ambiente ácido, com pH de 3,0 a 4,0, as moléculas de pectina estão carregadas negativamente, causando o efeito de repulsão entre as partículas de mesma carga, que ficam suspensas e conhecidas como “partículas turvas” sendo responsáveis pela turbidez do suco. As enzimas pectinolíticas atuam degradando a pectina e expondo a parte carregada positivamente da proteína. A repulsão eletrostática entre essas partículas é então reduzida, permitindo que elas formem aglomerados que precipitam (LEA, 1998).

4.4 Classificação das enzimas pectinolíticas

As enzimas pectinolíticas constituem um grupo de enzimas que catalisam a degradação das substâncias pécticas presentes nos materiais vegetais. A classificação destas

enzimas é baseada nos modos de ataque ao esqueleto galacturônico, pela preferência de substrato (pectina, ácido péctico ou protopectina), pela ação por transeliminação ou hidrólise e por clivagem randômica (enzima endo-, liquidificante ou despolimerizante) ou terminal (enzima exo- ou sacarificante). São descritos três grupos de enzimas: as esterases (pectinesterases), as protopectinases e as despolimerases (hidrolases e liases) (ALKORTA et al., 1998; JAYANI; SAXENA; GUPTA, 2005; KASHYAP et al., 2001). O modo de ação dessas enzimas pectinolíticas é mostrado na Figura 7.

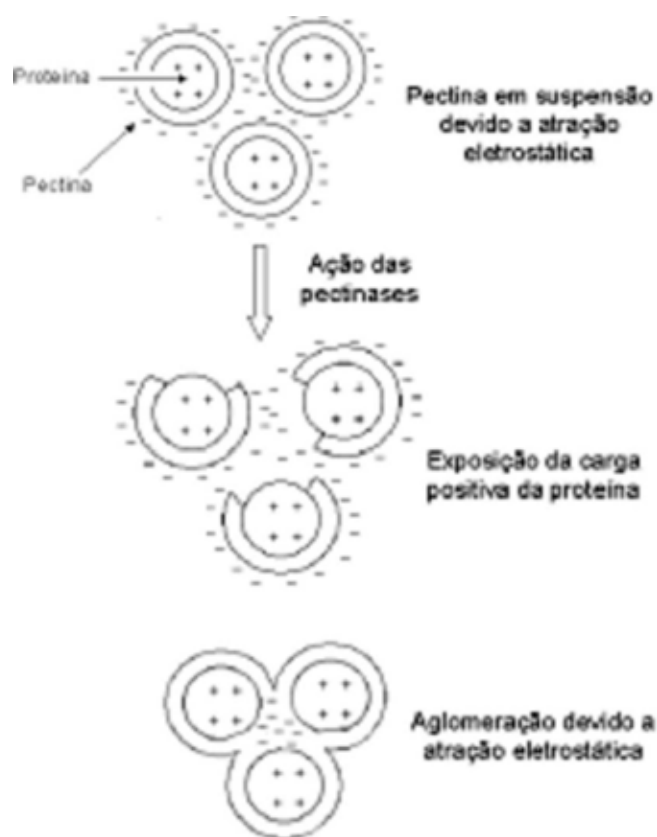


FIGURA 6 – Esquema do mecanismo de formação do complexo pectina-proteína (LEA,1998)

As esterases, também denominadas de pectinesterases, catalisam a desesterificação da pectina por remoção do grupo metoxila das substâncias pécticas, formando ácido péctico. A pectina de baixa metoxilação liberada ainda pode ser hidrolisada pela poligalacturonase, uma hidrolase. As pectinesterases podem ser produzidas por fungos, bactérias, leveduras e plantas superiores.

As protopectinases são as enzimas que degradam a protopectina insolúvel gerando a pectina polimerizada altamente solúvel.

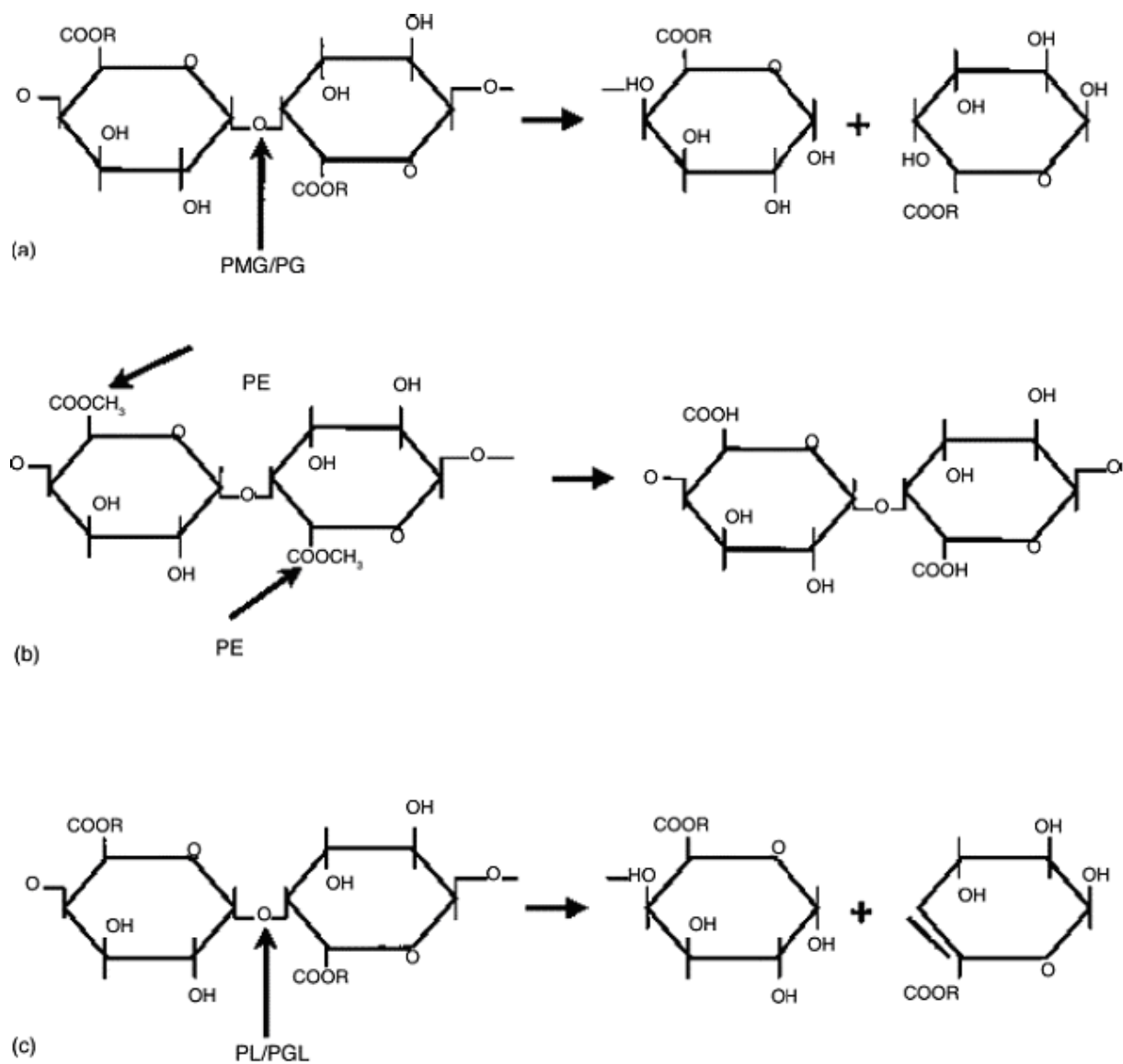


FIGURA 7 - Modo de ação das enzimas pectinolíticas (JAYANI; SAXENA; GUPTA et al., 2005)

NOTA: (a) $R = H$ para PG e CH_3 para PMG; (b) PE; e (c) $R = H$ para PGL e CH_3 para PL. A seta indica o local onde a enzima pectinolítica reage com as substâncias pécicas. PMG, Polimetilgalacturonase; PG, Poligalacturonase; PE, Pectinesterase; PL, Pectina Liase; PGL, Poligalacturonato Liase

Já as despolimerases catalisam a quebra das ligações glicosídicas $\alpha(1\rightarrow4)$ entre os monômeros do ácido D-galacturônico da cadeia de galacturonana (VANDRESEN, 2007) e podem ainda ser subdivididas em:

- Pectina Liases: atuam por trans-eliminação, quebrando a ligação glicosídica por reação de trans-eliminação do hidrogênio, formando dupla ligação entre os carbonos 4 e 5 do ácido galacturônico São divididas em:

- o Polimetilgalacturonato liases: atuam preferencialmente no ácido pectínico

- o Poligalacturonato liases: têm preferência por ácido péctico (ácido poligalacturônico com baixos níveis de esterificação)

- Hidrolases: atuam na pectina por mecanismos de hidrólise catalisando a quebra da ligação glicosídica pela introdução de água. As hidrolases podem ser subdivididas em:

- o Poligalacturonases: têm preferência pelo substrato desmetoxilado (ácido péctico). Hidrolisam ligações glicosídicas $\alpha(1\rightarrow4)$ entre dois resíduos de ácido galacturônico.

- o Polimetilgalacturonases: têm preferência pelo substrato altamente metoxilado (ácido pectínico). Hidrolisam polimetil-galacturonatos a oligometilgalacturonatos por clivagem das ligações $\alpha(1\rightarrow4)$.

Ambas as hidrolases podem ser ainda endo- (hidrólise randômica) ou exo- (hidrólise seqüencial).

4.5 Agentes clarificantes empregados em clarificação de sucos de frutas

Os principais agentes clarificantes utilizados em sucos de frutas são geralmente a bentonita, a sílica sol e a gelatina. A gelatina parece ser o mais importante auxiliar para a floculação da matéria em suspensão em sucos de frutas. Cada tipo de suco requer uma quantidade ótima efetiva, em que a falta da gelatina resulta em floculação incompleta e causa problemas durante a filtração, e o excesso, causa turbidez no suco filtrado dado ao excesso da proteína da gelatina (SCHWEIZERISCHE FERMENT AG, 1980). As cargas positivas da gelatina interagem com as cargas negativas da pectina presente nos sucos de frutas, resultando na precipitação da gelatina e do complexo gelatina-pectina (VAN BUREN; ROBINSON, 1969).

A gelatina é conhecida por atuar sobre a pectina, enquanto que a bentonita e a sílica sol por atuarem sobre as proteínas existentes nos sucos a serem clarificados. Portanto, a

utilização da gelatina em conjunto com a bentonita e sílica sol é mais efetiva no que tange à diminuição do teor de pectina e da viscosidade, em comparação com o uso desses agentes de forma isolada. Visando entender a habilidade dos agentes clarificantes em remover proteínas é importante entender a natureza das proteínas existentes no suco. As proteínas podem ser caracterizadas pelo tamanho e carga elétrica. Em determinado pH, se as cargas positivas e negativas de cada fração de proteína se encontram equalizadas e a proteína é menos solúvel. Esse pH é conhecido como ponto isoelétrico ou ponto isoionico da proteína. Quanto menor é a diferença entre o pH do suco e o ponto isoelétrico da fração da proteína, menor é a rede de cargas nessa fração de proteína e menor é a solubilidade da fração. Se o pH do suco é diferente do ponto isoelétrico da proteína então a rede de cargas nessa fração é maior e também é maior a solubilidade da mesma. Dessa forma, as propriedades isoelétricas da proteína influenciam não somente a sua tendência natural de precipitação, como também sua afinidade com outros agentes, de forma que ela possa ser removida (ZOECKLEIN, 1988).

O tratamento comercial de suco de maçã geralmente inclui um tratamento com gelatina para clarificação. A gelatina reage com o tanino presente no suco, formando um complexo gelatina – tanino, que irá se depositar na forma de precipitado. Na preparação de suco de maçã, a despectinização que se segue à prensagem tem dois efeitos: causa a coagulação do material turvo, que é estabilizado pela pectina insolúvel, e diminui a viscosidade. Após a despectinização, obtendo-se um suco parcialmente clarificado, a gelatina é utilizada para finalmente clarificar o suco de maçã (NEUBECK, 1959).

Em outro estudo, sucos límpidos de caju foram obtidos utilizando-se gelatina para a precipitação dos taninos. Os resultados foram plenamente satisfatórios no tocante à turbidez durante o período de estocagem, não ocorrendo a formação de turvação, dada a interação de substâncias pécticas e outros polissacarídeos com proteínas e polifenóis, e nem mesmo a formação de sedimentos, caracterizado pela precipitação de partículas com diâmetro superior a $0,5\ \mu$ (SAMPAIO, 1990).

Bentonita foi utilizada para remoção de complexos de polissacarídeos-proteína em sucos de uva (KAMENSKAYA, 1988). Sucos de uva também foram clarificados por uma combinação de gelatina, sílica sol e bentonita, juntamente com um tratamento enzimático com enzimas pectinolíticas (GRAMPP et al., 1989).

Estudos utilizando-se de bentonita e gelatina como agentes de clarificação de suco de caju indicam que o uso da bentonita promove a otimização da operação de filtração, possibilitando a obtenção de um produto límpido, brilhante e com reduzida adstringência. O

produto apresentou padrão de qualidade condizente com outros sucos clarificados existentes no mercado (OLIVEIRA, 2004).

Trabalho conduzido por Silva et al. (1998) produziu suco de cajá clarificado utilizando-se enzima Pectinex-AR (Novo Nordisk Ferment Ltda.) e posteriormente, agentes clarificantes, gelatina e solução de sílica sol. Estes autores obtiveram um produto que não apresentou diferenças quanto a viscosidade e a turbidez ao longo de 120 dias de estocagem, demonstrando assim a eficiência no emprego dos agentes coadjuvantes de clarificação (gelatina e sílica sol). Eles destacaram que não houve a formação de sedimentos ou turvação, considerados fatores complicadores do processo de clarificação.

Diversas alternativas têm sido estudadas para o melhoramento do processo convencional de refino de suco e para clarificação de suco de cereja. Os efeitos interativos e individuais sobre a formação da turbidez e opalescência foram investigados no suco pré-centrifugado em tratamentos com enzimas pectinolíticas, protease ácida, ácido gálico e solução gelatina-sílica, utilizando-se um modelo experimental fatorial. A solução gelatina-sílica foi a que teve o melhor efeito sobre a clarificação do suco (MEYER; KOSER; ADLER-NISSEN, 2001).

4.5.1 Modo de ação da gelatina e do colágeno hidrolisado

A gelatina tem sido utilizada para a clarificação de vinhos desde a civilização romana e ainda hoje é um agente clarificante bastante empregado pela indústria de bebidas. As vantagens do uso da gelatina para a clarificação de bebidas como a cerveja, vinho e sucos de frutas, se concentram na sua longa vida de prateleira, grau alimentício, manipulação simples, baixos custos, rápida precipitação, clarificação brilhante, melhora na cor, sabor e odor e melhora na filtração.

A gelatina é uma proteína, isto é, um polímero de aminoácidos ligados por cadeias peptídicas. A glicina é o aminoácido predominante na gelatina, estando presente em 33%, enquanto 22% dos aminoácidos são constituídos por prolina e hidroxiprolina e os restantes 45% estão distribuídos entre os outros 17 aminoácidos diferentes (GELITA, 2009). Ela reage com taninos, pectinas, partículas de leveduras, proteínas e materiais similares, iniciando a floculação e a clarificação. Essa reação é influenciada pela temperatura e o pH do meio.

A gelatina pode apresentar ponto isoelétrico entre pH 5 e pH 9, dependendo da fonte de extração e do método de produção. As gelatinas tipo A são normalmente derivadas de tratamento ácido da pele de porco e possuem ponto isoelétrico entre 6 e 9. As com alto poder de geleificação, determinado através do grau “bloom”, possuem alto ponto isoelétrico e próximo a 9. As gelatinas com baixo poder de geleificação, possuem ponto isoelétrico próximo de 6. Gelatinas derivadas de pele e osso, tratadas com solução alcalina são conhecidas como gelatinas tipo B e todas elas possuem ponto isoelétrico próximo de 5 (COLE, 1986). O valor bloom é o grau de consistência de um gel; isto é, a força necessária para uma sonda com 12,7 mm de diâmetro, penetrar 4 mm em um gel de gelatina a 6,67%. Normalmente os valores de bloom das gelatinas comerciais variam de 50 a 300 bloom (POPPE, 1997). Existem vários estudos comprovando que gelatinas com baixo bloom são melhores para clarificação de suco (COLE, 1986).

A gelatina pode apresentar cargas positivas ou negativas dependendo do pH do meio. Em vinhos e bebidas, pH 3,6, espera-se que a maioria dos aminoácidos esteja carregada positivamente e a maioria dos grupos ácidos esteja descarregada. Vinhos, sucos de frutas e vinagre apresentam um potencial natural para o efeito de sedimentação da gelatina, porque os materiais que causam turbidez possuem carga negativa e uma tendência de estar em suspensão (COLE, 1986).

A adição de gelatina pode ajudar na precipitação e sedimentação, pois a gelatina, carregada positivamente e os materiais turvantes carregados negativamente são atraídos e se combinam para formar um aglomerado que sedimenta levando as partículas pequenas. A gelatina é empregada na clarificação de bebidas com dois objetivos: fazer com que o material turvante fique mais pesado e por consequência não possa permanecer em suspensão e também para aumentar o tamanho das moléculas, favorecendo a remoção por filtração ou outro método. No processo de clarificação a primeira reação que ocorre com a gelatina é a formação de complexos entre os polifenóis existentes no suco e a proteína da gelatina, visando a precipitação do floco formado. A segunda reação é a formação de complexo entre as proteínas naturais do suco e a gelatina adicionada. A terceira reação ocorre com a bentonita ou a sílica sol que adsorve complexos, se ligando aos resíduos de proteínas, sejam elas naturais do produto em tratamento ou da gelatina (GELITA, 2009).

A gelatina pode ser hidrolisada através da utilização de enzimas visando a obtenção de menor peso molecular e a esse produto se dá o nome de colágeno hidrolisado. Este tem sido utilizado como substituto da gelatina para algumas aplicações, dentre elas na clarificação de suco e vinhos, sendo esta última a maior aplicação. Ele é composto de proteína

de colágeno e possui a vantagem de ser solúvel em água fria e possuir baixa viscosidade, sendo por isso facilmente manipulado, ao contrário da gelatina. Ele não geleifica quando em solução a 12,5% a 10°C (POPPE, 1997), possui capacidade de mistura e é compatível com a maioria dos produtos alimentícios. Os hidrolisados de colágeno constituem um pó claro, seco em *spray dryer*, podendo também se apresentar na forma aglomerada.

4.5.2 *Modo de ação da bentonita*

Bentonita é o nome genérico de uma argila composta predominantemente pelo argilomineral montmorilonita, do grupo das esmectitas, independente de sua origem ou ocorrência. Os principais segmentos consumidores de argila bentonítica, no mercado brasileiro, são a indústria petrolífera (agente tixotrópico nas perfurações de petróleo), a indústria siderúrgica, a indústria de fundição (aglomerante em sistemas de areia verde), a indústria de tintas e vernizes (espessante), a indústria vinícola (elemento filtrante e clarificante de vinhos e sucos), a indústria da construção civil (impermeabilizante de barragens, aterros sanitários), a indústria alimentícia animal (componente inerte – veículo – para rações), indústria farmacêutica e de cosméticos.

O modo de ação da bentonita é através de cargas eletrostáticas. A superfície plana das plaquetas de bentonita é carregada negativamente e dessa forma, cargas positivas são adsorvidas pelas plaquetas. A bentonita, composta de silicato de alumínio hidratado, quando utilizada para remover proteínas que não participaram da reação de floculação e estão presentes no vinho branco e em sucos, atrai as proteínas que possuem cargas positivas (KEAN; MARSH, 1956). As moléculas de proteína ficarão aderidas às partículas de bentonita e o complexo precipitará. A bentonita também atrai outras cargas positivas tais como antiocianinas, compostos fenólicos e nitrogenados. Esse agente clarificante também pode adsorver, indiretamente, alguns componentes fenólicos através da ligação com proteínas que foram complexadas com os componentes fenólicos. Ela é conhecida por afetar a cor de vinhos tintos e pode levar a mais de 15% na remoção da cor (ZOECKLEIN, 1988).

O método de preparo da solução da bentonita afeta significativamente sua habilidade de remover as proteínas, pois ela é composta de pequenas plaquetas que são separadas por uma camada de molécula de água. Durante a hidratação, as plaquetas carregadas se repelem e são separadas, iniciando o processo de intumescência. As partículas

de água neutralizam as superfícies expostas mantendo as plaquetas em separado, expondo as superfícies reativas maiores. Quando preparada corretamente, a bentonita estabelece uma rede que envolve as partículas de água, prevenindo a aglutinação e a floculação da bentonita por ela mesma. Visando a efetividade da ligação da bentonita com proteínas, as plaquetas de bentonita devem ser preparadas como uma suspensão homogênea (ZOECKLEIN, 1988).

4.5.3 *Modo de ação da sílica sol*

A sílica sol é uma suspensão aquosa que contém 30% (v/v) de dióxido de silício, SiO_2 (ácido sílico a 30% dispersado coloidalmente), subproduto da indústria de vidro. Esse agente é utilizado como clarificante, pois sendo negativamente carregado, liga-se às cargas positivas de proteína, iniciando a floculação e sedimentação. A sílica sol previne a instabilidade das proteínas causadas pela clarificação com excesso de gelatina e aumenta a taxa de floculação.

No pH dos vinhos e sucos de frutas, a sua reatividade com a gelatina e a velocidade de precipitação dos coágulos permitem atingir um alto grau de limpidez. Devido a sua eletronegatividade, reage com os compostos de carga positiva e, em especial, com as proteínas existentes nos mostos de vinhos e sucos de frutas, com formação de flocos que precipitando arrastam outras partículas em suspensão que constituem a turbidez. Desse modo, originam-se borras compactas de volume reduzido.

4.6 O processo de separação por flotação

A flotação constitui no processo de separação de partículas (agregados) ou gotículas através de sua adesão a bolhas de um gás, normalmente ar, e incorporação das mesmas no interior de flocos ou por simples arraste hidráulico. As unidades formadas (flocos) por bolhas e pelas partículas ou gotículas apresentam uma densidade aparente menor do que o meio aquoso e “flutuam” ou “flotam” até a superfície do reator, célula de flotação ou até a interface líquido/ar, de onde são removidos (TESSELE et al., 2005). O processo consiste em várias etapas, dentre as quais se destacam a produção de pequenas bolhas por injeção de ar no

interior do líquido/suspensão, sua fixação às partículas, a ascensão dos flocos por diferença de densidade ou pelo efeito do empuxo e posterior separação física do flotado. Este processo caracteriza-se pela ascensão das partículas em suspensão, que foram floculadas em processos físico-químicos, ou que simplesmente tenham alguma forma de agrupamento físico cujo tamanho seja suficiente para a aderência às microbolhas constituintes da água saturada com ar sob pressão, tornando as partículas com menor massa específica do que o meio em que se encontram (LIMA, 2008).

4.6.1 Aplicações do processo de flotação

Inicialmente, a flotação foi criada para ser aplicada na indústria de minérios. Esse processo tem sido utilizado desde o final do século 19 como uma operação potencial para separação de partículas e foi incorporado na maioria dos processos extrativistas (EDZWALD, 1995; RUBIO et al., 2002).

A aplicação deste processo foi estendida à área ambiental e tem crescido, sendo alvo de inúmeros estudos em todo mundo. A relevância do processo de flotação aplicado ao tratamento de águas residuárias e esgoto, utilizando o processo de flotação por ar dissolvido, tem sido identificado e utilizado pelas engenharias civil, química e ambiental. A troca de experiência da aplicação desse processo nas áreas ambiental e de beneficiamento de minérios tem levado a novos e melhores procedimentos para o tratamento de águas residuais (KIURU, 2001; RUBIO; SOUZA; SMITH, 2002).

Segundo Rubio; Matiolo (2003), a flotação, na área ambiental, tem como objetivo remover particulados, sólidos (partículas) ou líquidos (gotículas) presentes em: dispersões sólido/líquido (suspensões), emulsões líquido1 (gotículas óleo)/líquido2 (água) e misturas sólido/líquido1 (gotículas óleo)/líquido2 (água). A Tabela 2 contém alguns usos e os objetivos da flotação como processo unitário ou de pré-tratamento associado a outros métodos aplicados em áreas distintas da engenharia.

Na indústria alimentícia, a flotação está começando a ser empregada e a ganhar popularidade. Algumas iniciativas industriais têm sido verificadas em sistemas de clarificação do suco de limão, maçã e na produção de suco de uvas. Contudo, embora existam algumas aplicações industriais nessa área, os trabalhos de pesquisa científica são bastante reduzidos. No Canadá, o sistema “Clarifruit” foi desenvolvido para a produção de suco de maçã

clarificado. Este sistema é baseado na flotação de partículas suspensas, em no máximo 2 horas, utilizando-se fluxo de nitrogênio supersaturado (LEA, 1995).

Um processo industrial não convencional foi proposto, visando a clarificação do suco de maçã e baseado na dissolução de gás no suco a ser tratado, com a técnica de filtração com fluxo contracorrente. A maior desvantagem deste sistema é a grande utilização de floculantes ou agentes clarificantes para obtenção de resultados eficientes na clarificação do suco de maçã (FERRARINI; CELOTTI; ZIRONI, 1997). A flotação aplicada à clarificação de mostos de uva e de sucos de frutas permite o tratamento de grandes quantidades, obtendo-se produtos com alto grau de limpidez e com a racionalização do uso de agentes clarificantes (FERRARINI et al., 1995).

TABELA 2 - Aplicação do processo de flotação em diversas áreas

<i>Usos da Flotação</i>	<i>Objetivos</i>
Águas de Abastecimento	Remoção de ferro, manganês, cor, sólidos solúveis totais e turbidez.
Águas de Lazer (lagos, rios e barragens)	Remoção de sólidos solúveis totais, algas, turbidez, cor, óleos, etc.
Esgotos pré-tratamento	Remoção de gorduras, sólidos solúveis totais e particulados grosseiros.
Esgotos pós-tratamento	Remoção de nutrientes, algas, cor, sólidos solúveis totais e turbidez.
Efluentes industriais	Remoção de gorduras, sólidos solúveis totais, particulados grosseiros, fibras. Remoção de nutrientes, algas, cor, sólidos solúveis totais, turbidez, metais precipitados, óleos (emulsificados ou não), microorganismos, pigmentos, compostos orgânicos e macromoléculas. Reúso ou reaproveitamento de águas de processo.
Outros	Tratamento de minérios, celulose e papel, reutilização de tintas, plásticos, química analítica, etc.

FONTE: Rubio; Matiolo, 2003

Arayas-Farias et al. (2008) constituíram o primeiro grupo de pesquisadores a estudar a clarificação de suco de maçã por eletroflotação. Foram realizados tratamentos com a densidade de corrente de 20 mA cm^{-2} com a adição de 0, 50, 100 e 200 mg L^{-1} de gelatina. Os resultados mostraram que os tratamentos realizados somente com a eletroflotação foram eficientes para reduzir o tanino e o conteúdo de proteínas do suco de maçã. Contudo, a redução no conteúdo de proteínas deve-se mais à utilização de pectinas em etapa anterior ao tratamento da eletroflotação. O uso da gelatina em combinação com a eletroflotação ajudou o processo de clarificação. A maior concentração de gelatina utilizada (200 mg L^{-1}) resultou em

maior redução dos níveis de taninos e proteínas; enquanto a densidade de corrente de 20 mA cm⁻² foi considerada a melhor em termos da taxa de geração de bolhas de gás e da estabilidade do ânodo. A concentração de sólidos solúveis e o pH do suco tratado não foram afetados, enquanto que a cor foi melhorada.

4.6.2. Princípios da flotação

Em todos os processos de flotação, a etapa de fixação bolha-partícula é a que deve ser controlada. Ela depende de inúmeros fatores, porém os mais importantes são a taxa de colisão entre as bolhas e as partículas e a hidrofobicidade da partícula. A taxa de colisão depende no grau de turbulência promovido no sistema e também do tamanho relativo das partículas e das bolhas. Quanto menor as partículas a serem flotadas, menor deve ser o tamanho das bolhas a serem geradas já que a eficiência da colisão entre as partículas e bolhas aumenta com a diminuição do tamanho das últimas.

Partículas e bolhas podem ser fixadas de inúmeras formas: por turbulência na suspensão, pela velocidade diferencial entre bolhas em suspensão e as partículas descendentes, por aprisionamento das bolhas na estrutura dos flocos, ou por agregação de ar às partículas. Contudo, a forma de flotação por turbulência pode dissolver os flocos formados pelos agentes clarificantes, embora considerada uma técnica de fácil aplicação, enquanto que os outros métodos apresentam dificuldades técnicas e podem ser, portanto utilizados somente em um número limitado de aplicações. Com relação à hidrofobicidade das partículas, a mesma pode ser aumentada pela utilização de agentes de superfície tensoativos. A adição destes agentes geralmente é necessária para ser possível a ocorrência da flotação, já que a maioria das partículas normalmente são hidrofílicas (SVAROVSKY, 1985).

Para o modelamento do processo de flotação, é normalmente assumido que a remoção dos sólidos é uma transformação de primeira ordem, similar a outras reações químicas (SVAROVSKY, 1985). A flotação depende das características superficiais e interfaciais do sistema partículas e bolhas (RUBIO; MATIOLO, 2003).

A flotação de partículas em suspensão é, portanto, um fenômeno cinético composto por diversas etapas ou micro-fenômenos. Associando-se probabilidades a cada uma dessas etapas, obtém-se um modelo probabilístico, microcinético desta tecnologia. Conforme

exposto por Rubio et al. (2001) e por Rubio; Mاتيolo (2003) a probabilidade para que a flotação ocorra pode ser representada pela Equação 1.

$$P_f = P_c \times P_a \quad (1)$$

Onde:

P_f = probabilidade de flotação;

P_c = probabilidade de colisão;

P_a = probabilidade de adesão.

A probabilidade de colisão (P_c) é basicamente controlada pela hidrodinâmica do sistema. Não existe uma teoria quantitativa que inclua ao mesmo tempo a influência da concentração de sólidos, e a distribuição do tamanho de bolhas e partículas, sob condições de regime laminar ou turbulento. A probabilidade de colisão é, portanto, função dos movimentos relativos de partículas e bolhas, controlados pelos seguintes fatores:

- Força de cisalhamento - devida ao movimento relativo entre o líquido e as partículas;
- Força de atração gravitacional - com maior importância para partículas densas, de tamanho intermediário e partículas grossas;
- Inércia e/ou momentum das partículas (partículas grossas);
- Difusão ou movimento browniano (partículas ultrafinas).

A probabilidade de adesão (P_a) envolve as seguintes etapas:

- Indução: tempo que leva após a colisão para se localizar onde ocorre a adesão propriamente dita. Tempo de indução é da ordem dos milissegundos e depende do ângulo de contato (θ), das forças interfaciais e da energia de colisão e inclui a redução da espessura inicial do filme ou película líquida.
- Ruptura do filme ou película líquida: tempo de ruptura é da ordem de microssegundos e depende basicamente do ângulo de contato.
- Tempo de deslocamento do filme até o ponto de equilíbrio (restauração do equilíbrio) (ou tempo de expansão da zona de contato entre as fases sólida, líquida e gasosa): O tempo de deslocamento do filme é da ordem de milissegundos e depende do θ , do tipo de tensoativo e da rugosidade das partículas.

Durante o processo de flotação, os fenômenos que envolvem a hidrodinâmica do sistema, como a adesão das bolhas às partículas e seu movimento devem ocorrer de modo que haja a maior interação possível no sistema bolha de ar/partícula. Como demonstra a Figura 8, a “captura”, isto é, a colisão somada à adesão das partículas floculadas depende de

fatores para sua interação, em que o diâmetro da bolha (d_b) e o diâmetro da partícula (d_p) são relações primordiais para a eficiência do fenômeno colisão/adesão. O raio crítico (r_c) também interfere para o fenômeno de captura.

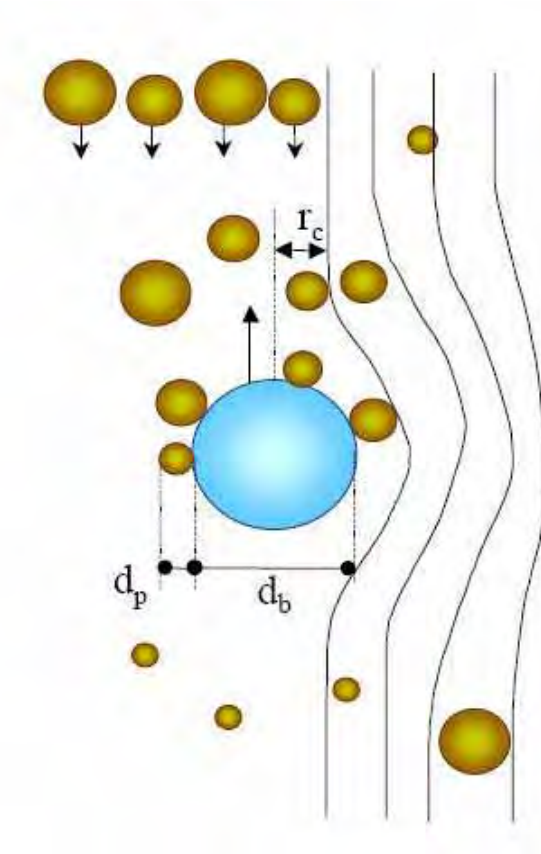


FIGURA 8 – Fenômeno de captura de partículas de diâmetro d_p , por bolhas de diâmetro d_b dentro de um raio crítico r_c (RUBIO; MATIOLO, 2003)

A captura das partículas flotadas aumenta com a diminuição do tamanho das bolhas e com o aumento do tamanho das partículas, que depende do fluxo e da área superficial das bolhas disponível, de parâmetros hidrodinâmicos (campo gravitacional, pressão hidrostática e capilaridade, tensão, compressão e forças de cisalhamento), fatores termodinâmicos associados à interação hidrofóbica entre as bolhas e partículas e de fatores cinéticos como a energia mínima de colisão para destruir a camada líquida da água que antecede a adesão. A Figura 9 mostra um esquema dos fenômenos que ocorrem na flotação.

A câmara, onde haverá a incorporação do ar comprimido ao meio líquido, deve levar a produção de bolhas com o menor diâmetro possível, devido à maior probabilidade de bolhas de diâmetros menores aderirem à superfície do sólido, visto que bolhas relativamente

grandes tendem a não aderirem à sua superfície, ocorrendo muitas vezes, a destruição dos flocos pré-formados.

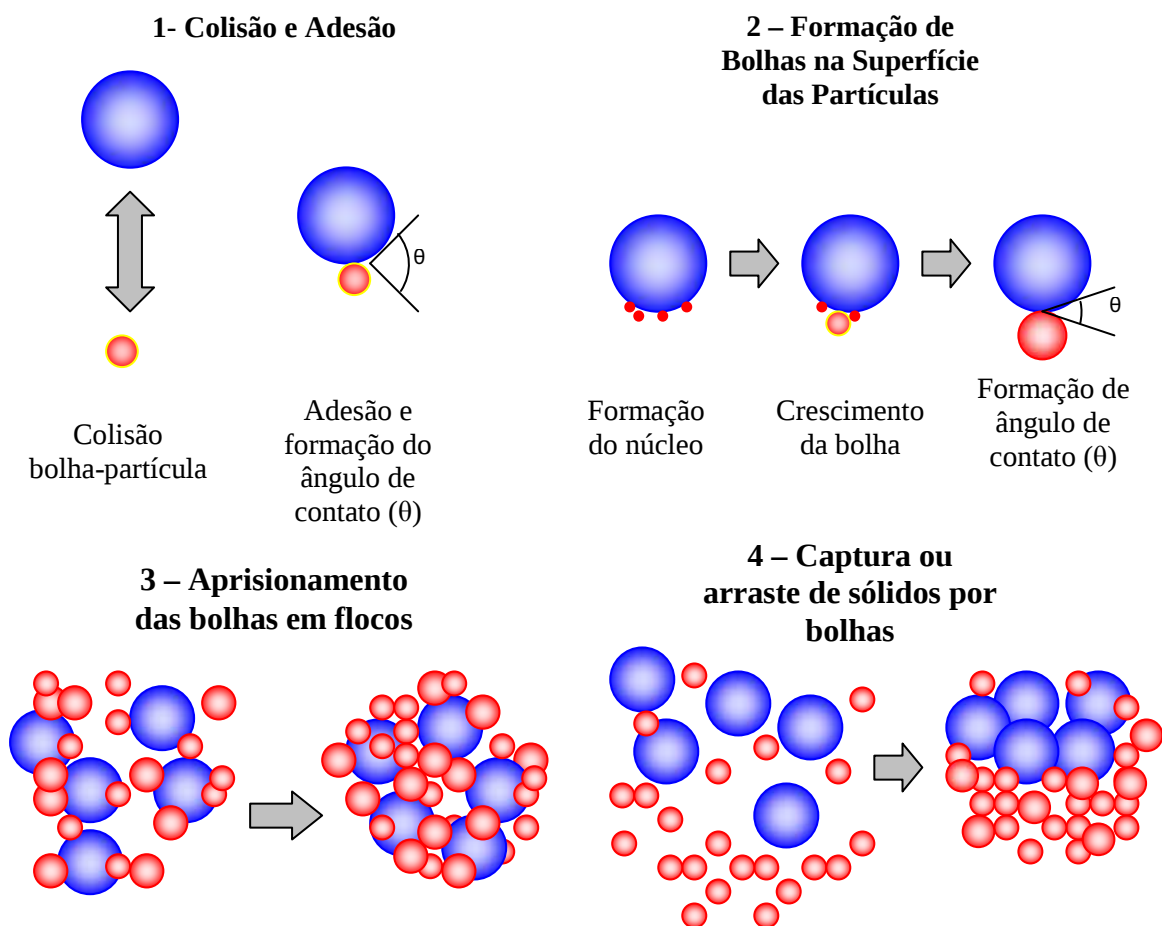


FIGURA 9 – Fenômenos de colisão e adesão (1), agregação e nucleação (2), formação dos flocos (3) e, captura de partículas e agregados por microbolhas (4) (SENA, 2005)
NOTA: Partículas estão representadas pela cor azul e bolhas pela cor vermelha.

Estudos da aplicação da flotação em tratamento de efluentes alertam que devem ser evitados defeitos na construção de flotadores visando diminuir falhas operacionais no sistema. A presença de bolhas grandes de ar não dissolvido pode causar interferência no arraste e quebra de floculados. A relação de ar dissolvido e sólidos em suspensão não satisfeita pode ocasionar sedimentação e arraste de lodo, ou seja, a parte sólida que se deseja remover nestas aplicações. Tempo de retenção reduzido ou turbulência na câmara de flotação causa arraste de lodo e, tempo de retenção excessivo na câmara de flotação, também pode ocasionar sedimentação e arraste do mesmo (GIORDANO, 2004).

A área superficial e o volume do flotador são calculados de maneira a reter o efluente com ar dissolvido, por tempo necessário para que as bolhas de ar consigam suspender a maior parte dos sólidos possíveis para a superfície do tanque, vencendo a força gravitacional sobre as partículas. O tempo de contato das microbolhas de ar e a permanência do efluente a ser flotado no interior do flotador, podem ser alterados controlando as vazões de entrada e saída do sistema, que são parâmetros de projeto essenciais na construção de flotadores de ar dissolvido (LIMA, 2008).

4.6.3. Modos de condução da operação de flotação

Dependendo do método utilizado na produção das bolhas, a flotação é classificada como flotação por ar dispersado, ar dissolvido ou eletrolítica (SVAROVSKY, 1985).

A flotação por ar dispersado gera bolhas através da injeção de ar combinado com agitação ou por borbulhamento de ar através do meio poroso. O tamanho das bolhas normalmente é grande (1 mm), capaz de flotar grandes partículas. Esse tipo de flotação tem sido utilizado há muitos anos no setor de minérios visando concentrar metais bases, como uma separação de processo sólido-sólido. Além disso, a flotação por ar dispersado tem sido utilizada na produção de carvão, na separação de ervilhas das cascas, na separação de tinta de polpa de papel, dentre outros. O grande tamanho das bolhas gerados nesse tipo de flotação faz com que este processo seja ineficiente para separação de partículas finas (SVAROVSKY, 1985).

A flotação por ar dissolvido e a eletrolítica são utilizadas na separação sólido-líquido tendo em vista que podem ser aplicadas a partículas finas. A flotação por ar dissolvido se apresenta como uma alternativa a sedimentação por gravidade já que pode operar com volumes maiores e utilizar equipamentos menores e mais compactos. Esse tipo de processo de flotação tem sido utilizado na indústria de papel, na alimentícia para recuperação de gorduras e proteínas e para sistemas de separação de lodo ativado. Ela é baseada no aumento da solubilidade do ar na água à medida que a pressão aumenta. Assim, parte ou a totalidade da alimentação é saturada com ar a altas pressões e a mesma é reduzida, através da passagem por válvulas ou placas de orifício; quando pequenas bolhas são disponibilizadas para a flotação (SVAROVSKY, 1985). Há três formas de conduzir a flotação por ar dissolvido:

- por saturação a pressão atmosférica, seguido de flotação sob vácuo,
- por saturação sob coluna estática com fluxo ascendente resultando na formação de bolhas (microflotação),
- por saturação a pressões maiores que a atmosférica (200 a 700 kPa), seguida de flotação sob pressão atmosférica.

Esta última forma de condução do processo de flotação é a que foi utilizada no presente trabalho. No processo por flotação de ar dissolvido a pressões maiores que a atmosférica, o ar é dissolvido em água num saturador sob pressão. Quando a água saturada com ar é injetada, à pressão atmosférica, na célula de flotação, o ar em excesso é liberado sob a forma de microbolhas (30-100 μm), aderindo à fase em suspensão e promovendo a flotação (RUBIO; MATIOLO, 2003).

Na eletroflotação, bolhas de gás hidrogênio e oxigênio são produzidas por eletrólise e normalmente são menores que 30 micra. Ao invés de um saturador, como o necessário para a flotação por ar dissolvido, é necessário um sistema retificador e portanto mais oneroso, capaz de fornecer de 5 V a 20 V de corrente contínua a uma corrente de aproximadamente 100 A por metro quadrado de eletrodo. A diferença de potencial necessária para manter a densidade de corrente requerida para a geração de bolhas, depende da condutividade elétrica do material de alimentação (SVAROVSKY, 1985). A flotação por eletroflotação é utilizada no tratamento de águas residuárias de pequenas instalações. O motivo que faz esse processo não ser viável para grandes instalações é devido aos custos operacionais elevados, quando comparados aos custos da flotação por ar dissolvido.

Nas aplicações envolvendo tratamento de águas e efluentes, variações dos processos de flotação foram desenvolvidas a partir da descrição apresentada acima. A Tabela 3 relaciona algumas dessas variações no sistema de geração de bolhas com os intervalos de tamanho resultantes das mesmas (RUBIO; MATIOLO, 2003).

TABELA 3 - Sistemas de geração de bolhas e diâmetro das mesmas

<i>Sistema de Geração de Bolhas</i>	<i>Diâmetro da Bolha (μm)</i>
Cavitação da água saturada com ar a pressões elevadas, 3-6 atm, e que se libera através de placas de orifício, perfuradas, ou válvulas do tipo Venturi ou de agulha. Nessas constrições de fluxo, a solução se “sobressatura”, se despressuriza e o ar “rompe” a estrutura do fluido pela nucleação/cavitação para formar microbolhas.	30 – 100
Agitação mecânica rotor/estator (baixa rotação)	50 – 1500
Agitação mecânica (alta rotação)	10 -100
Sucção de ar através de constrição do tipo Venturi	100 – 800
Sucção de ar em tubo descendente por constrição do tipo Venturi	100 – 800
Injeção de misturas água-tensoativo-ar através de constritores de fluxo (tipo misturadores estáticos ou venturis)	100 – 800
Bombeamento contínuo de soluções de tensoativos em constritores de fluxo e temperatura (60-80°C)	10 – 1000
Eletrólise de soluções aquosas diluídas (bolhas de H_2 e O_2)	10 – 40
Injeção de ar em tubos porosos sob campo centrífugo	50 – 1000
Aeração da suspensão através de placas porosas	50 – 1000

FONTE: (RUBIO; MATIOLO, 2003).

5 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 Caracterização da matéria-prima a ser clarificada

A matéria-prima para condução dos experimentos foi fornecida por uma indústria de cítricos, localizada no interior do estado de São Paulo, que possui 60 extratoras, permitindo o processamento de aproximadamente 28 milhões de caixas de laranja de 40,8 kg por safra. Esse volume de fruta permite a produção de 120.000 toneladas de suco concentrado a 66 °Brix por ano.

O suco fornecido, considerado como secundário, foi obtido a partir do processamento de laranjas da variedade Pêra Rio (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) na safra 2008/2009, através da extração com água, em sucessivos estágios, dos sólidos solúveis existentes nas membranas e sementes que compõem a parte central da fruta e é denominado de suco *core wash*; tendo sido processado industrialmente por filtração, enzimação e concentração em evaporadores. A enzimação foi realizada com 0,025 mL L-suco⁻¹ de enzima poligalacturonase, a 45°C, por 45 minutos, visando facilitar a concentração do suco, realizada em evaporador de múltiplo efeito, do tipo filme descendente. Após o processamento, a indústria enviou o suco para tanques de aço-inox, com agitadores, em ambiente com temperatura de aproximadamente 5°C, onde o suco foi imediatamente resfriado, homogeneizado e padronizado. Nesta etapa foi composto o lote do produto utilizado. Posteriormente, este suco foi envasado em tambores de 200 kg e enviado à câmaras frias a -12°C. A amostra fornecida para a realização dos experimentos foi coletada antes do envio do produto às câmaras frias e após a formação do lote, sendo envasada em potes de 1 litro e congeladas nas câmaras frias da empresa a -12°C. Esta amostra foi utilizada ao longo de todo o trabalho, o que garantiu o uso de suco proveniente de um único lote.

Ao serem recebidas para execução dos experimentos, as amostras foram mantidas congeladas a -8°C, até a véspera do uso, quando a quantidade necessária para a realização dos mesmos era descongelada sob refrigeração. No momento do uso, a quantidade necessária de suco para execução dos experimentos foi reconstituída a 12°Brix, com água destilada a 25°C e climatizada a esta temperatura.

5.2 Tratamento Enzimático

O objetivo desta etapa foi avaliar a influência do tipo de enzimas e do tempo de incubação na degradação da pectina existente no suco *core wash*, permitindo dessa forma a atuação posterior dos agentes clarificantes; os quais só podem ser adicionados após a degradação da pectina.

O suco diluído a 12° Brix e mantido a 25°C, foi distribuído em béqueres de 1 L e aquecido a 45°C. Esta temperatura é a considerada ótima para as enzimas testadas e foi mantida com o auxílio de um banho termostaticado. Após atingida a temperatura desejada, a enzima foi dosada na concentração de 0,05 mL L-suco⁻¹, determinada conforme indicações do fornecedor e ensaios preliminares.

A cada 30 minutos após a adição das enzimas nas amostras de suco, foi realizado o teste, denominado de Prova do Álcool, para verificar a ocorrência ou não da degradação da pectina presente (LEA, 1995). Nesta prova, alíquotas do suco em tratamento enzimático foram coletadas e filtradas à vácuo, em funil de Büchner, e com papel de filtro qualitativo. Adicionou-se em um tubo de ensaio 5 mL dessa amostra filtrada e 10 mL de álcool etílico acidificado (álcool etílico hidratado a 96% (v/v), acidificado com 1% de ácido clorídrico concentrado). O tubo foi agitado e esperou-se 15 minutos para efetuar a avaliação. Quando do aparecimento de turbidez ou flocos, o resultado era considerado positivo (+) e indicava a presença de pectina. Nenhum sinal de floculação era indicativo de resultado negativo (-), ou seja, ausência de pectina, conforme é apresentado na Figura 10. É importante destacar que quando a amostra apresentava resultado negativo, ou seja, a pectina havia sido degradada, o teste era repetido após 30 minutos para confirmação do resultado.

Foram realizados ensaios com quatro tipos de enzimas diferentes fornecidas pela LNF Latino Americana Ltda., cujas características são apresentadas na Tabela 4. Foram testadas duas enzimas purificadas, sendo uma delas uma hidrolase; mais especificamente uma poligalacturonase (Pectinex YieldMASH), e a outra uma pectina liase (Pectinex SMASH XXL); e duas enzimas que são compostas por misturas de várias enzimas pectinolíticas; porém tendo uma delas a poligalacturonase como enzima predominante (Novoferm 61) e a outra, dominância de uma pectina liase (Novozym 33095). Os ensaios foram conduzidos em triplicata.

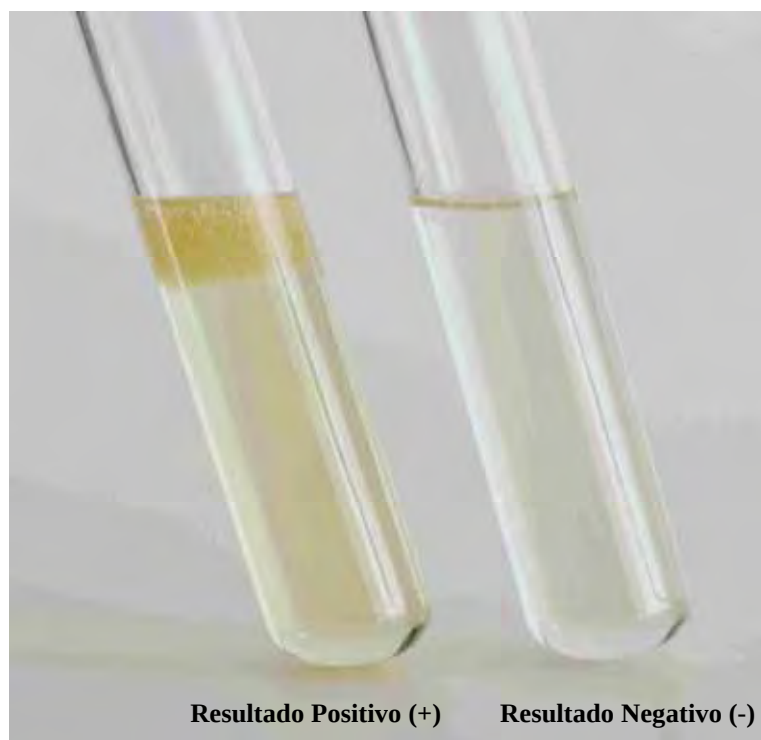


FIGURA 10 - Tubo de ensaio com teste de álcool para verificar a ocorrência da degradação enzimática da pectina

TABELA 4 – Características das enzimas testadas

Enzima	Nome Comercial	Atividade
Hidrolase (poligalacturonase) purificada	Pectinex YieldMASH	55.000 PGU mL ⁻¹
Mistura de enzimas com predominância de hidrolase (poligalacturonase)	Novoferm 61	7.000 PECTU mL ⁻¹
Pectina Liase purificada	Novozym 33095	10.000 PECTU mL ⁻¹
Mistura de enzimas com predominância de Pectina Liase	Pectinex SMASH XXL	22.500 PECTU mL ⁻¹

NOTA: PGU = unidades de poligalacturonase, PECTU = unidades de pectinase

Considerando que tempos maiores do que 4 horas resultam na degradação do suco devido a elevada temperatura utilizada no tratamento enzimático e, portanto inadequada para a aplicação proposta, este tempo foi considerado como tempo máximo de reação.

Visando proceder a inativação de enzimas naturais do suco e da enzima adicionada, após a pectina ter sido degradada, a amostra foi aquecida a 90°C por 5 minutos. Após este tempo, a amostra foi imediatamente resfriada em banho com gelo até a temperatura ambiente (25°C). O procedimento adotado para inativação enzimática foi adaptado de Sin et al. (2006), Rai et al. (2004) e Brasil; Maia; Figueiredo (1995).

O mesmo procedimento para o tratamento enzimático, verificação da degradação da pectina e inativação enzimática, foi aplicado com a enzima escolhida em todos os experimentos subsequentes realizados ao longo do trabalho.

5.3 Tratamento com colágeno hidrolisado e sílica sol

Utilizou-se colágeno hidrolisado fornecido pela empresa Gelita e denominado Colágeno Hidrogel B50, constituído de 90 - 95% de proteína, com coloração amarelo claro, obtido pela extração de tecido animal, com sabor e odor característicos, granulometria de 60 mesh, pH entre 5,0 e 6,0 e viscosidade a 20% (m/m) de 40 - 50 mPas. A sílica sol utilizada foi produzida pela empresa Bayer e denominada Baykisol30, na forma de uma suspensão aquosa contendo 30% (v/v) de ácido sílico dispersado coloidalmente.

Para o preparo da solução de colágeno hidrolisado a 1,0% (m/v), pesou-se 1,0 g do produto, que foi adicionando lentamente em 100 mL de água destilada contida em um béquer, sob intensa agitação, a 25°C. Após a adição de todo o colágeno, a agitação foi mantida durante 10 minutos objetivando a dissolução total do produto. A solução de sílica sol foi preparada a 1,0 % (v/v) diluindo-se 1,7 mL de solução a 30% (Baykisol30) em 50 mL de água destilada, a temperatura ambiente, em balão volumétrico.

5.3.1 Capacidade flocculante

Vários experimentos preliminares foram realizados objetivando-se ajustar a metodologia para determinação da dosagem de colágeno hidrolisado e de sílica sol. A quantidade ótima desses agentes clarificantes deve ser determinada, pois a falta dos mesmos pode resultar em clarificação incompleta, mas por outro lado, o excesso de colágeno hidrolisado, pode causar turbidez no filtrado em face da presença de proteína em excesso, cuja ocorrência é prevenida com a ação da sílica sol, a qual também é responsável por aumentar a taxa de floculação (LEA, 1995).

Diversas metodologias têm sido propostas por diferentes autores com objetivos distintos (BRASIL; MAIA; FIQUEIREDO, 1995; DANESI et al., 2007; LEA, 1995; SILVA,

et al., 1999). Alguns propõem a realização de ensaios para verificar somente a combinação de gelatina e sílica sol que forneceria o produto mais clarificado, outros, para, além disso, verificar o excesso de gelatina, através da reação com gotas de ácido tânico ou sílica sol, ou a sua insuficiência para clarificar o produto, através de reação com gelatina. Por esta razão alguns autores denominam este teste de “Prova de Excesso ou Insuficiência de Clarificação”.

Lea (1995) propõe que esse teste seja realizado visando a verificação direta da melhor combinação de sílica sol e gelatina que pode proporcionar a melhor clarificação e, através da reação com a sílica sol a 3% (v/v) para a verificação do eventual excesso de gelatina, com a formação de turvação ou precipitação. Esta autora não propõe o teste para verificação da insuficiência da gelatina.

Danesi et al. (2007) sugerem a determinação da quantidade de gelatina a ser aplicada através da verificação da dosagem que proporciona o produto mais claro em diferentes concentrações, através da determinação da transmitância do produto clarificado em espectrofotômetro, o que também é uma medida do grau de clarificação. Este autor não propõe metodologia para verificar excesso ou insuficiência de gelatina.

Brasil; Maia; Figueiredo (1995) e Silva et al. (1999) propõem uma metodologia para verificação da dosagem de gelatina em excesso ou insuficiência através da reação com ácido tânico a 1,0% (m/v) e gelatina a 1,0% (m/v), respectivamente, e adicionados ao produto tratado com diferentes concentrações de gelatina e sílica sol. A combinação que não reagir como o ácido tânico e nem com a gelatina seria a melhor combinação.

A proposta inicial para o presente trabalho previa a aplicação de metodologia da Prova de Excesso ou Insuficiência de Clarificação, através da dosagem de ácido tânico e colágeno hidrolisado, adaptada de Lea (1995); Brasil; Maia; Figueiredo (1995) e Silva et al. (1999) para se estabelecer a combinação de sílica sol e gelatina para a melhor clarificação (Figura 11). Para execução desta metodologia utilizou-se tubos de ensaio, em triplicata, com adição a cada um de 50 mL de suco despectinizado a 12° Brix, após inativação enzimática, a 25°C. Em seguida era realizada a adição de sílica sol a 1,0% (v/v), seguida do colágeno hidrolisado a 1,0% (m/v), de forma que a concentração final fosse a desejada.

Os agentes clarificantes eram adicionados um de cada vez e respeitando a ordem apresentada, em função da forma de atuação desses agentes e tendo em vista sua carga eletrostática. A gelatina possui carga positiva e atua sobre a pectina e outros compostos de carga negativa existentes no suco e que causam turbidez. A sílica sol por sua vez possui carga negativa e atua sobre os compostos de carga positiva, como as proteínas existentes no suco. Cada um dos tubos era agitado manualmente para promover uma completa e eficiente ligação

eletrostática entre as partículas e deixado sob repouso durante 5 minutos, entre as adições dos agentes clarificantes, colágeno hidrolisado e sílica sol; e 30 minutos, após a dosagem do colágeno hidrolisado.

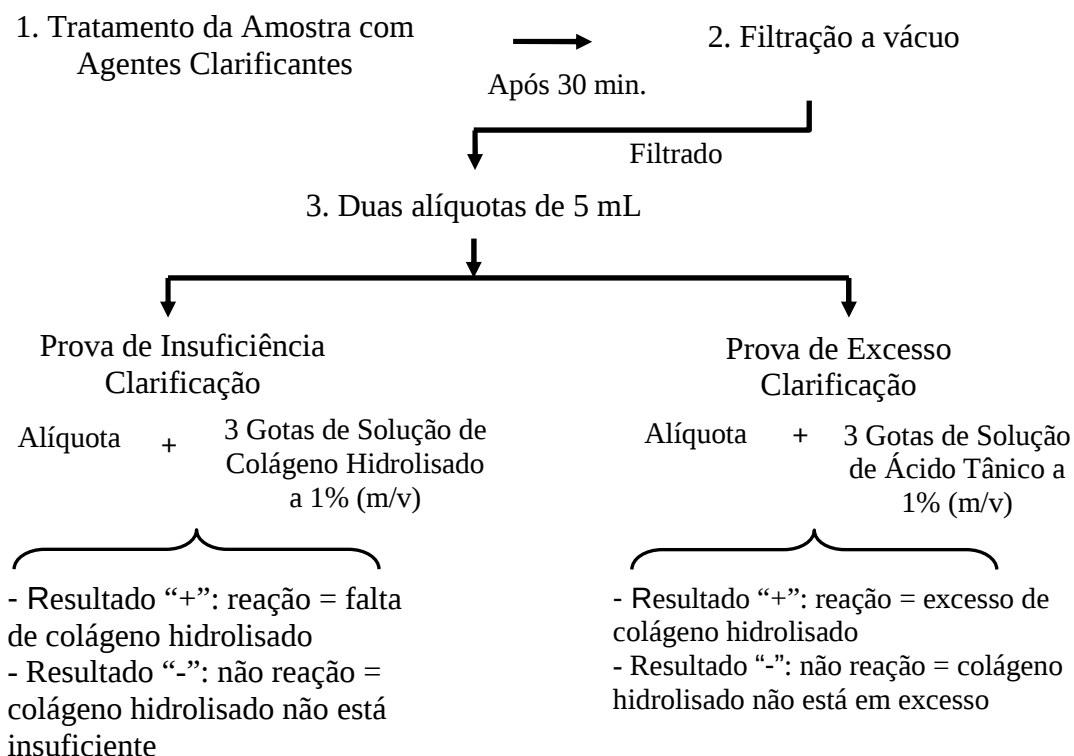


FIGURA 11 - Esquema da proposta inicial para aplicação de metodologia da Prova de Excesso ou Insuficiência de Clarificação

Após 30 minutos, a amostra foi filtrada a vácuo em funil de Büchner, usando-se papel qualitativo, com o filtrado dividido em duas alíquotas de 5 mL.

A primeira foi inserida em um tubo de ensaio no qual se procedeu a “Prova de Excesso de Clarificação”, onde foram adicionadas 3 gotas de ácido tânico a 1,0% (m/v). O ácido tânico reage com a gelatina, e se há colágeno hidrolisado em excesso ele reage com o tanino e há turvação.

A segunda alíquota, na qual se procedeu a “Prova de Insuficiência de Clarificação”, foram adicionadas 3 gotas de colágeno hidrolisado a 1,0% (m/v). O colágeno reage com possíveis compostos de carga negativa, responsáveis pela turbidez e no caso colágeno hidrolisado insuficiente havia a formação de turvação, em função da reação destes compostos com as gotas de colágeno hidrolisado adicionadas.

Na condução dos testes preliminares com o suco *core wash* foi encontrada muita dificuldade em se determinar as diferenças entre a ocorrência de floculação (positivo) ou não (negativo), o que prejudicou a confirmação dos resultados positivos e negativos.

Outras metodologias alternativas foram testadas visando melhorar a determinação da reação com o colágeno hidrolisado e com o tanino, no sentido da identificação mais objetiva dos resultados “positivo” e “negativo”: (i) realização de ensaios com soluções padronizadas preparadas com reagentes e concentrações conhecidas; (ii) aumento na concentração da solução de colágeno hidrolisado para 5,0% (m/v) e do ácido tânico para 5,0% (m/v) utilizadas na reação para verificação do excesso ou insuficiência de gelatina; (iii) filtração prévia da amostra sob vácuo, com papel de filtro qualitativo, empregando-se somente o filtrado; (iv) centrifugação prévia da amostra, empregando somente o sobrenadante; (v) uso de concentração fixa de sílica sol, variando-se as concentrações de colágeno hidrolisado.

(i) Ensaios com soluções de reagentes puros

O objetivo foi estabelecer um modelo para os resultados “positivo” e “negativo” para a “Prova de Insuficiência de Clarificação”. Para tanto, foram preparadas soluções de ácido tânico a diferentes concentrações, 1,0, 2,5, 5,0 e 7,5 mg (L de água destilada)⁻¹ (Tabela 5). A concentração de colágeno hidrolisado e de sílica sol dosadas para a clarificação dessas soluções foi maior (500 mg (L de solução de ácido tânico)⁻¹ e 0,20 mL (L de solução de ácido tânico)⁻¹, respectivamente) do que as utilizadas para clarificação de sucos tendo em vista que se trabalhou com solução de reagente puro. Após o tempo de reação de 30 minutos, a ocorrência de resultado positivo, através da reação da solução de colágeno hidrolisado a 1,0% (m/v) com o tanino presente na solução, era indicativo de insuficiência de colágeno hidrolisado.

TABELA 5 – Tratamento de soluções de ácido tânico com agentes clarificantes

Ensaio	Concentração da solução de ácido tânico (mg L ⁻¹)	Concentração de sílica sol (mL L ⁻¹)	Concentração de colágeno hidrolisado (mg L ⁻¹)
1	1,0	0,20	500
2	2,5	0,20	500
3	5,0	0,20	500
4	7,5	0,20	500

(ii) Aumento da concentração da solução de colágeno hidrolisado e da solução de ácido tânico

A partir do estabelecimento da reação positiva e negativa, a aplicação desta metodologia teve por objetivo a utilização de solução de ácido tânico e de colágeno

hidrolisado na concentração de 5,0%, ou seja 5 vezes maior do que o proposto pela literatura (BRASIL; MAIA; FIQUEIREDO, 1995) com o objetivo de facilitar à ocorrência das reações, deixando mais objetiva a leitura. Os tratamentos com os agentes clarificantes utilizados estão apresentados na Tabela 6. Utilizou-se água destilada visando-se manter a diluição do produto, nos ensaios sem adição de sílica sol ou colágeno hidrolisado (0 mg L^{-1}).

TABELA 6 - Tratamento com agentes clarificantes usando-se soluções de ácido tânico e colágeno hidrolisado a 5,0% (m/v)

Ensaio	Concentração de sílica sol (mL L^{-1})	Concentração de colágeno hidrolisado (mg L^{-1})
1	0	0
2	0,20	100
3	0	100
4	0,20	30

(iii) Filtração prévia da amostra sob vácuo

O suco foi submetido a uma pré-filtração sob vácuo, em papel qualitativo antes de ser tratado com os agentes clarificantes (Tabela 7). Nos ensaios sem a adição de sílica sol (0 mL L^{-1}) e colágeno hidrolisado (0 mg L^{-1}), água destilada foi adicionada na mesma proporção.

TABELA 7 – Tratamento com agentes clarificantes usando-se pré-filtração a vácuo

Ensaio	Concentração de sílica sol (mL L^{-1})	Concentração de colágeno hidrolisado (mg L^{-1})	Pré-tratamento
1	0	0	Sem pré-tratamento – filtração a vácuo não realizada
2	0,20	50	
3	0	50	
4	0,20	200	
5	0	0	Filtração a vácuo
6	0	50	
7	0,20	50	

(iv) Centrifugação prévia da amostra

Para a aplicação desta metodologia, introduziu-se a centrifugação prévia ao tratamento do suco e coleta do sobrenadante para posterior tratamento com agentes clarificantes. Os tratamentos utilizados estão apresentados na Tabela 8. Foi utilizada uma centrífuga da marca FANEM, modelo 215, onde 50 mL de suco foram centrifugadas por 10 minutos a 1.600 rpm conforme adaptação da metodologia de polpa sedimentável apresentada por Kimball (1999). Nos ensaios sem adição de sílica sol (0 mL L^{-1}) e colágeno hidrolisado (0 mg L^{-1}), água destilada foi adicionada na mesma proporção.

TABELA 8 - Tratamento com agentes clarificantes usando-se centrifugação

Ensaio	Concentração de sílica sol (mL L ⁻¹)	Concentração de colágeno hidrolisado (mg L ⁻¹)	Pré-tratamento
1	0	0	Centrifugação
2	0,20	100	
3	0,20	30	
4	0	0	Sem pré-tratamento – centrifugação não realizada
5	0,20	100	
6	0,20	30	

(v) Concentração fixa de sílica sol

Nesta metodologia, fixou-se a escala de concentração de sílica sol para concentrações variáveis de colágeno hidrolisado, para que se pudesse conseguir a determinação objetiva das reações positivas e negativas para a “Prova de Insuficiência de Colágeno”. Para tanto, fixou-se a concentração de sílica sol em 0,10, 0,15 e 0,20 mL L-suco⁻¹ e variou-se os teores de colágeno hidrolisado em 0, 50, 75, 100, 125, 150, 175 e 200 mg L-suco⁻¹, conforme indicado na Tabela 9.

TABELA 9 – Tratamento com agentes clarificantes: Prova de Insuficiência de Clarificação

Ensaio	Concentração de sílica sol (mL L-suco ⁻¹)	Concentração de colágeno hidrolisado (mg L-suco ⁻¹)
0	0	0
1	0,10	0
2	0,10	50
3	0,10	75
4	0,10	100
5	0,10	125
6	0,10	150
7	0,10	175
8	0,10	200
9	0,15	0
10	0,15	50
11	0,15	75
12	0,15	100
13	0,15	125
14	0,15	150
15	0,15	175
16	0,15	200
17	0,20	0
18	0,20	50
19	0,20	75
20	0,20	100
21	0,20	125
22	0,20	150
23	0,20	175
24	0,20	200

5.3.2 *Determinação das dosagens de colágeno hidrolisado e sílica sol*

Em experimentos preliminares foram realizadas flotações com e sem a presença de colágeno hidrolisado e sílica sol, onde foi constatada a pequena influência destes agentes clarificantes na evolução da flotação e na clarificação do produto final. Dessa forma, os experimentos para a clarificação do produto por flotação auxiliada pelos agentes clarificantes foram planejados tendo concentrações fixas de colágeno hidrolisado e sílica sol, determinadas a partir do procedimento descrito. Essa estratégia foi definida em detrimento da variação nas concentrações de sílica sol e colágeno hidrolisado simultaneamente com a variação nos demais parâmetros (pressão de saturação e concentração de bentonita).

Em função dos ajustes de metodologia para a determinação da floculação (positivo) ou não (negativo) na reação com o colágeno hidrolisado e com o tanino, adotou-se a “Prova de Excesso de Clarificação”, através da reação com o ácido tânico a 5,0% (m/v), aliada à metodologia de avaliação da clarificação através da determinação da transmitância do produto tratado com agentes clarificantes, para definição das dosagens de colágeno hidrolisado e de sílica sol a serem utilizadas (Figura 12). A leitura da transmitância foi realizada a 660 nm em espectrofotômetro da marca Micronal, modelo B342II. Optou-se por não realizar a “Prova de Insuficiência de Clarificação”, em função da dificuldade de determinação dos resultados positivos e negativos.

Foram realizados dois ensaios para determinação da dosagem de colágeno hidrolisado e de sílica sol. O primeiro objetivou definir a concentração de colágeno hidrolisado a ser utilizada e para tanto se variou a concentração deste agente clarificante em 50, 75 e 100 mg L-suco⁻¹. O segundo teve por objetivo definir a concentração de sílica sol que melhor atuaria com a concentração de colágeno hidrolisado definida no experimento anterior, variando-se a concentração de sílica sol em 0,15, 0,20 e 0,25 mL L-suco⁻¹. Os experimentos foram realizados em duplicata.

5.4 Tratamento por flotação auxiliada pelos agentes clarificantes

Para a realização dos experimentos de flotação foi utilizado um flotador de bancada (Figuras 13 a 17). O equipamento foi construído com base em modelos testados

industrialmente em aço inoxidável AISI 304 com características sanitárias e é composto por um vaso cilíndrico vertical de 3" de diâmetro e 45 cm de altura, com volume total de 2 litros para tratamento de 1 litro de suco por batelada. A esse vaso foi acoplada uma tampa com um tubo vertical de aço inoxidável de ½" de diâmetro para permitir a injeção do ar comprimido no interior do vaso. A tampa do flotador com anel de vedação em borracha sintética Buna-N e braçadeira de fechamento rápido, sendo fechamento hermético, possui um manômetro acoplado para medição da pressão.

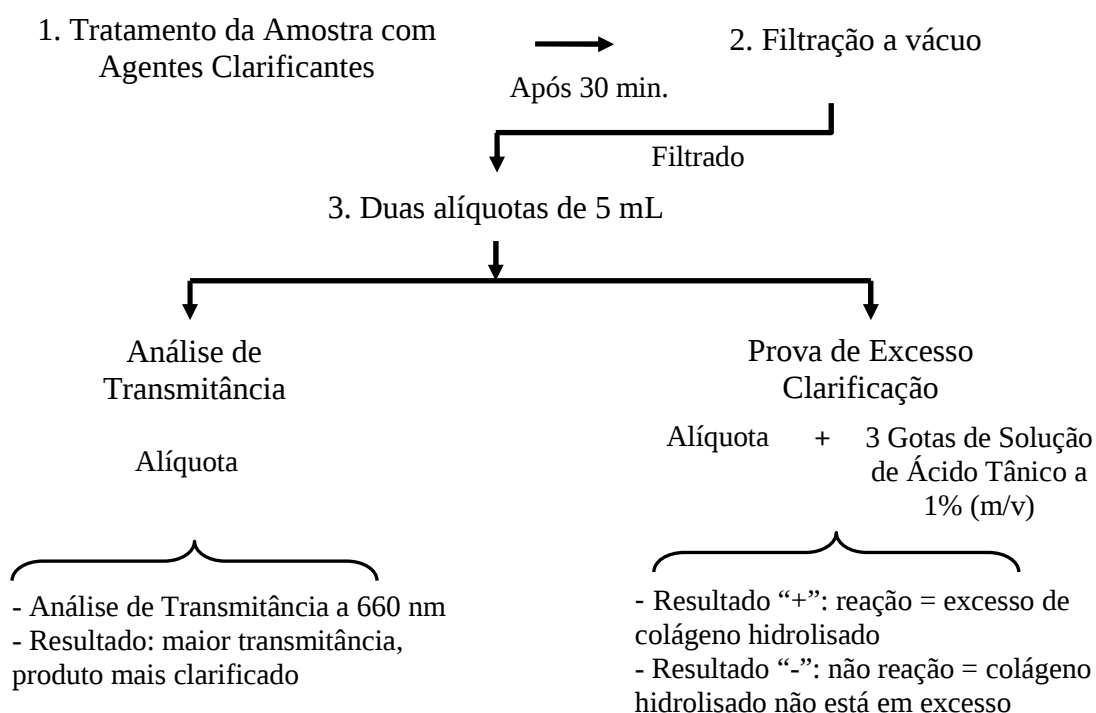


FIGURA 12 - Esquema da metodologia da Prova de Excesso de Clarificação e Análise de Transmitância adotadas para definição das dosagens de colágeno hidrolisado e de sílica sol

Um sistema de agitação translacional foi desenvolvido para o vaso do flotador, constando de um motor de 0,5 HP, proporcionando aproximadamente 100 rpm no eixo do vaso do flotador, através de um sistema de polias.

O princípio de funcionamento do flotador se baseia na dissolução do ar no líquido com aplicação de pressão. Através da válvula indicada na Figura 15, ar comprimido é injetado diretamente na parte inferior do líquido, previamente contido no vaso, que se dissolve, formando bolhas que se aderem às partículas suspensas e flutam quando da



FIGURA 13 – Fotografia do flotador de bancada usado nos experimentos



FIGURA 14 - Fotografia do agitador com o flotador acoplado

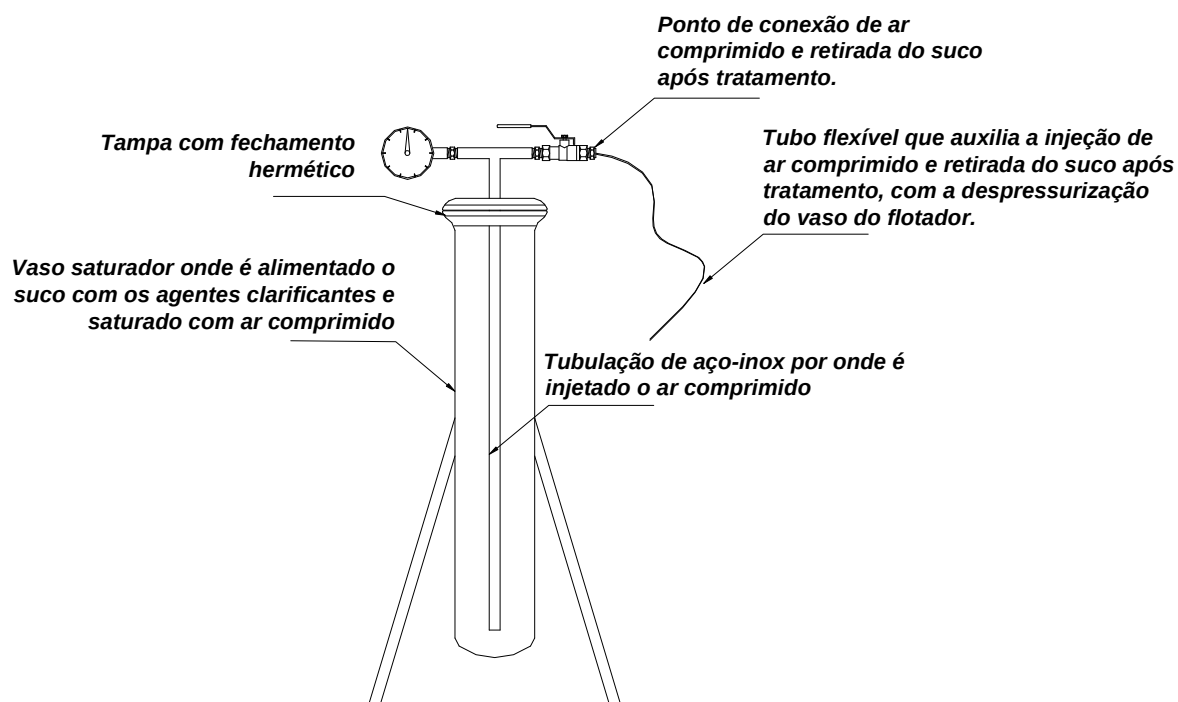


FIGURA 15 - Esquema do flotador de bancada usado nos experimentos

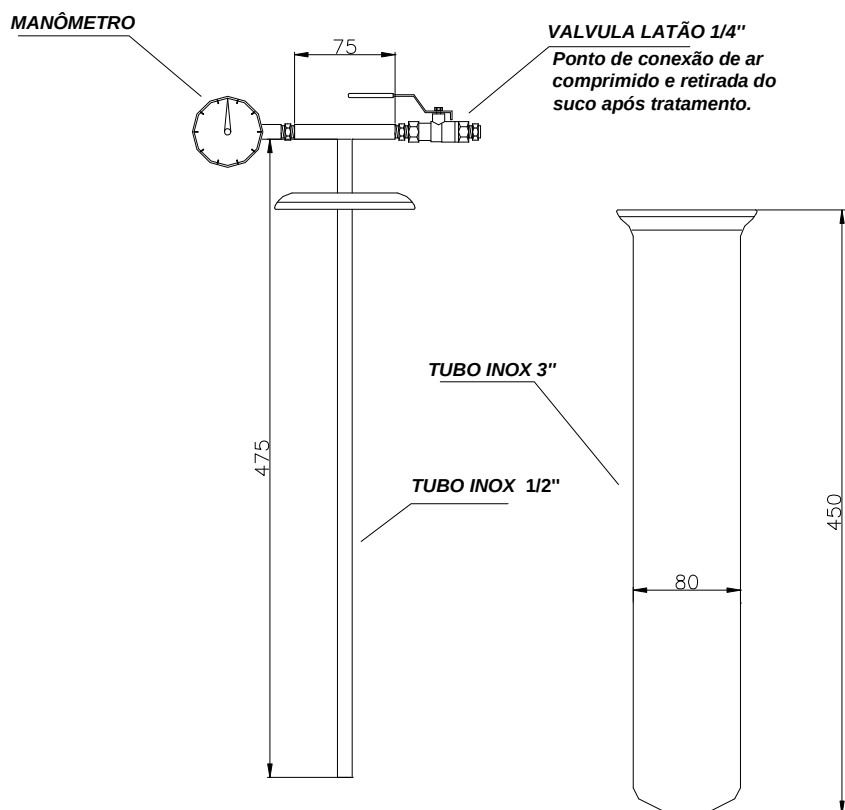


FIGURA 16 - Esquema do flotador de bancada, com destaque para as dimensões, manômetro e válvula instalada

despressurização do vaso, arrastando os compostos indesejáveis. Para proceder a clarificação foi utilizada amostra previamente tratada (despectinizada, com enzimas inativadas, a 25°C). A adição dos agentes clarificantes, sílica sol e colágeno hidrolisado, foi realizada nas concentrações definidas nos ensaios descritos no item 5.3.2. Após a injeção do ar comprimido, realizou-se a agitação mecânica do vaso saturador a 100 rpm, durante 1 minuto, para homogeneização do ar ao suco. Os parâmetros variáveis do processo de flotação foram a concentração de bentonita e a pressão no vaso saturador.

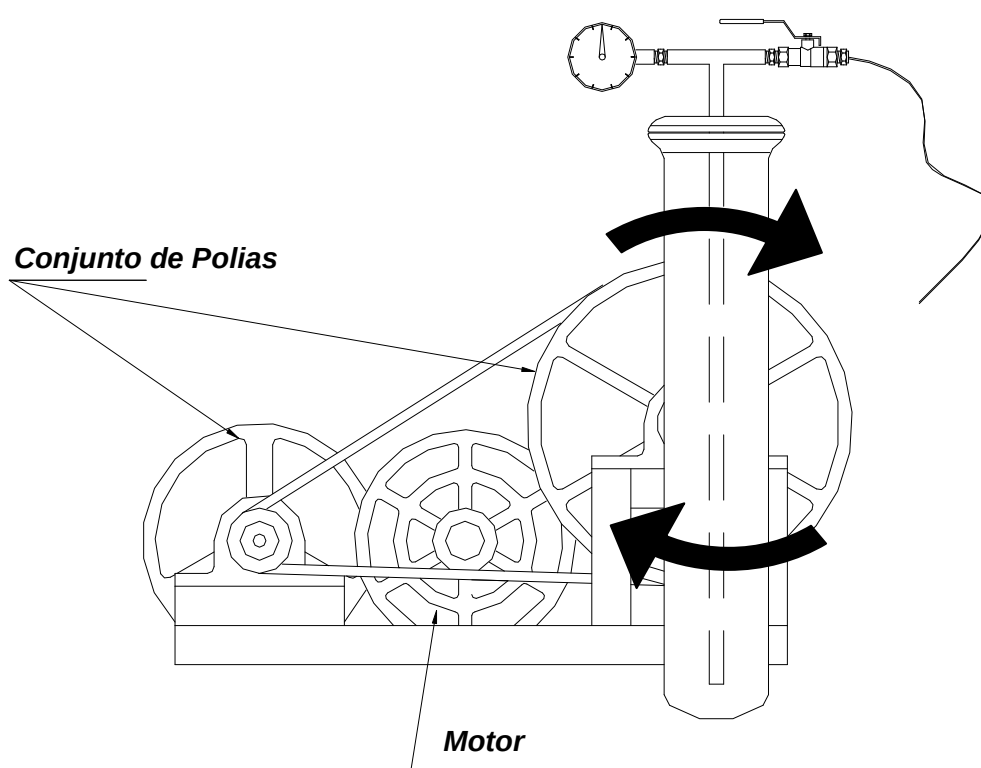


FIGURA 17 - Esquema do agitador com o flotador acoplado e seta indicativa do movimento

5.4.1 Determinação do tipo, faixa de concentração e preparo da bentonita

Existem no mercado inúmeros fornecedores e diferentes tipos de bentonitas, com características distintas para uma ampla gama de aplicações. A escolha de qual seria aplicada foi feita em função de experimentos preliminares. Foram testadas 3 bentonitas distintas, a uma mesma concentração, 1.000 mg L-suco⁻¹. O suco foi flotado após ter a pectina

degradada, enzimas inativadas quando foi adicionada a bentonita, como único agente clarificante. Foi monitorado o processo de clarificação, verificando o tempo necessário para que cada um dos tratamentos produzisse um clarificado com transmitância definida, 90%. O tratamento com bentonita que atingiu essa transmitância em menor tempo e possuía o menor custo foi a fornecida pela empresa Bentonit União Nordeste S.A., sob denominação Argel CN 40. Trata-se de argila esmectita sódica natural, sendo indicada para todos os processos de adsorção de resíduos coloidais, com aplicação na clarificação de vinho, cerveja, vinagre e sucos de frutas, uma vez que possui boa dispersão e baixo teor de impurezas. Possui no máximo 15 mesh, viscosidade aparente de no mínimo 10 kPa de uma solução a 6,04% (m/m) e pH de 6,5.

Os teores de bentonita testados também foram definidos com base em experimentos preliminares, nos quais se variou os teores de bentonita de 300 a 2.000 mg L-suco⁻¹. Nestes casos, a bentonita também foi o único agente clarificante e o monitoramento do processo de clarificação foi realizado verificando-se o tempo necessário para que cada um dos tratamentos produzisse um clarificado com transmitância definida, 90%. Através destes, concluiu-se que a partir de 500 mg L-suco⁻¹ a bentonita exercia influência na clarificação do produto e não era efetiva em dosagens de 300 e 400 mg L-suco⁻¹. Quanto maiores os teores de bentonita, menores foram os tempos para a clarificação do produto. Dessa forma, foram usados teores de bentonita de 500, 1.000 e 1.500 mg L-suco⁻¹.

A bentonita foi utilizada em solução a 5,0% (m/v). Para o preparo, foi adicionada 250 mL de água destilada em béquer, que foi aquecido em banho termostatizado a 80°C, quando se adicionou, lentamente, a quantidade adequada de bentonita em pó (12,5 g), com o auxílio de um agitador mecânico. A solução foi mantida sob agitação a 80°C durante 2 horas visando maximizar a hidratação e o efeito do produto. A forma de hidratação da bentonita afeta significativamente sua habilidade em remover as proteínas e outros compostos, pois a medida que a hidratação ocorre, pequenas placas que compõe a bentonita são repelidas, expondo as superfícies reativas e facilitando as ligações eletrostáticas. Por esta razão, optou-se por preparar a solução de bentonita suficiente para execução de todos os experimentos, sendo possível garantir que não houve interferência nos resultados em função da forma de preparo da bentonita. A solução preparada foi mantida sob refrigeração e climatizada a 25°C no momento do uso.

A influência da hidratação da bentonita sobre a clarificação e sobre o processo de flotação foi comprovada através de experimentos preliminares. Foi preparada uma solução de bentonita a 5% (m/v) um dia antes da execução do experimento e esta solução foi mantida

sob aquecimento e agitação mecânica nas duas primeiras horas e somente sob agitação nas demais 22 horas. Uma segunda solução foi preparada 1 hora antes da utilização, sendo mantida em aquecimento e agitação somente durante esse tempo. Foram realizadas duas flotações nas mesmas condições de pressão e dosagem da solução de bentonita. O tratamento em que foi dosada a bentonita preparada 24 horas antes do uso apresentou produto clarificado com maior transmitância, em menor tempo.

5.4.2 Determinação da faixa de pressão na flotação

A faixa de pressão aplicada nos ensaios de flotação foi definida através de informações da literatura e experimentos preliminares. Sindou et al. (2008) utilizaram 400 kPa para a clarificação de suco de laranja. Féris; Rubio (1999) afirmaram que normalmente pressões acima de 300 kPa são utilizadas em flotações que se utilizam de ar dissolvido, sendo possível o uso de pressões menores, entre 200 e 300 kPa, quando são usados agentes tensoativos no vaso saturador. Svarovsky (1985) recomenda que flotações por ar dissolvido sejam realizadas sob pressões entre 200 a 700 kPa. Foram realizados experimentos preliminares com suco *core wash* tratado e contendo, respectivamente, 0,15 mL L-suco⁻¹, 100 mg L-suco⁻¹ e 1.000 mg L-suco⁻¹, de sílica sol, colágeno hidrolisado e bentonita e utilizando-se pressão de 290 kPa de ar comprimido para a flotação.

Como pode ser observado na Figura 18, no experimento com pressão de 290 kPa, a separação das fases se mostrou muito difícil. Após 20 minutos, ainda não se podia verificar diferenças entre as fases; mas após 40 minutos, havia separação, porém com material flotado e sedimentado misturados e uma pequena fase de clarificado.

Optou-se por realizar as flotações partindo-se de 490 kPa de pressão no flotador, pois a literatura menciona pressões mais altas, em torno de 700 kPa, que podem trazer resultados melhores e sem serem muito elevadas, a ponto de dificultar a mecânica operacional do processo. O limite superior para a pressão foi fixado em 900 kPa, tendo em vista a hermeticidade, resistência mecânica e segurança do flotador.



FIGURA 18 – Ensaio à pressão de 290 kPa, mostrando separação de fases após 20 minutos (funil de separação à esquerda) e com 40 minutos de flotação (à direita)

5.4.3 Procedimento de flotação com o uso de agentes clarificantes

Os experimentos de flotação do suco *core wash*, diluído a 12°Brix, despectinizado por enzimação, inativado a 90°C por 5 minutos, mantido a 25°C, adicionado de colágeno hidrolisado e sílica sol, foram realizados de acordo com o planejamento experimental apresentado na Tabela 10, tendo a concentração de bentonita e a pressão do ar comprimido como parâmetros variáveis.

TABELA 10 - Planejamento experimental para a flotação

Experimento	Pressão (kPa)	Concentração de Bentonita (mg L ⁻¹)
1	490	500
2	490	1.000
3	490	1.500
4	680	500
5	680	1.000
6	680	1.500
7	880	500
8	880	1.000
9	880	1.500

Para cada experimento foi utilizado 1 litro de suco proveniente do mesmo lote, com o processo de clarificação em quatro etapas: (i) adição dos agentes clarificantes e homogeneização, (ii) pressurização do flotador com injeção de ar comprimido, (iii) agitação e, (iv) flotação.

(i) Procedimento para a adição dos agentes clarificantes e homogeneização:

- tomou-se 1 litro de amostra com auxílio de proveta, que foi transferida para recipiente de 2 litros;
- verificou-se a temperatura do suco, que foi mantido a 25°C;
- homogeneizou-se a amostra com agitador mecânico, por 1 minuto;
- adicionou-se 15 mL de sílica sol a 1,0% (v/v), para se obter a concentração definida nos ensaios descritos no item 5.3, ou seja, 0,15 mL L-suco⁻¹, seguido de homogeneização durante 1 minuto;
- adicionou-se 10 mL de colágeno hidrolisado a 1,0% (m/m), para se obter a concentração definida nos ensaios descritos no item 5.3, ou seja, 100 mg L-suco⁻¹, seguido de homogeneização durante 1 minuto;
- adicionou-se bentonita a 5% (m/v) na quantidade necessária para obter concentrações de 500, 1.000 ou 1.500 mg L-suco⁻¹, conforme indicado na Tabela 10 e homogeneizou-se durante 1 minuto.

(ii) Procedimento para pressurização do flotador com injeção de ar comprimido:

- transferiu-se a mistura de suco com os agentes clarificantes para o vaso do flotador;
- fechou-se hermeticamente o vaso;
- conectou-se o vaso a um tubo flexível visando a alimentação de ar comprimido através de duas válvulas (uma redutora de pressão e outra de bloqueio);
- injetou-se ar comprimido no vaso até a pressão de 490, 680 ou 880 kPa, conforme indicado na Tabela 10.

(iii) Procedimento para agitação:

- desconectou-se o tubo flexível para alimentação do vaso com ar comprimido, depois de atingida a pressão desejada;
- acionou-se o agitador mecânico, para homogeneização da mistura, durante 1 minuto.

Essa agitação final é importante para favorecer a taxa de colisão entre as bolhas formadas e dissolvidas no suco com o material suspenso que se deseja remover. Ensaios preliminares confirmaram o pequeno efeito de tempos menores ou maiores ao 1 minuto empregado.

(iv) Procedimento para flotação:

- transferiu-se imediatamente a mistura, após a agitação, com auxílio de tubo flexível para um funil de separação de 1,5 L.

Para esta transferência da mistura para o funil de separação, a válvula de bloqueio era aberta lentamente para despressurização e retirada do produto, direcionando a extremidade do tubo flexível para o interior do funil. Após o final da despressurização, o flotador era aberto e a mistura residual no flotador, em volumes inferiores a 10 mL, era transferida manualmente para o funil de separação.

Foram realizados experimentos na mesma condição e em duplicata com objetivos diferentes. No primeiro, a flotação foi conduzida em funil de separação graduado, com o propósito de se monitorar a separação das fases, clarificado, sedimentado e flotado, formadas ao longo do processo, e visando a determinação da velocidade de separação das fases e foi denominado de experimento para a determinação da “Cinética de Flotação”. Em outro experimento, realizado nas mesmas condições, a flotação foi conduzida em um funil de separação sem graduação de volume, com o objetivo de se acompanhar a evolução do grau da clarificação do produto através do monitoramento da transmitância do clarificado, retirado em alíquotas e com frequências pré-determinadas ao longo do processo de flotação e foi denominado experimento para “Monitoramento do Grau de Clarificação”.

5.4.3.1 Cinética de flotação/separação

Nos experimentos para a determinação da cinética de flotação, foi utilizado um funil de separação graduado com divisões volumétricas variáveis a cada 1 a 5 mL nos 50,0 mL iniciais; divisões a cada 20 mL dos 50 aos 300 mL; e a cada 50 mL dos 300 aos 1.500 mL. Optou-se pela realização da flotação/separação em funil de separação de 1,5 litros após experimentos preliminares de flotação em béqueres, garrafas de refrigerantes do tipo PET e

com o volume de suco tratado dividido em funis de separação de 250 mL. O funil de separação de 1,5 litro, contendo todo o volume de suco tratado no flotador, em cada batelada, foi o que apresentou os melhores resultados. Além disso, sua forma é a que mais se assemelha ao formato dos tanques de flotação utilizados em instalações industriais. A válvula existente no funil de separação também foi um aspecto considerado, pois facilitou a retirada das alíquotas para o acompanhamento dos experimentos e coleta do produto clarificado. Ao final dos experimentos da cinética de flotação, foram coletadas amostras do produto final clarificado para as análises físico-químicas.

Durante todo o experimento e a intervalos de 2,5 minutos, foi registrado o volume formado de cada uma das fases, sedimentado, clarificado e flotado. Nestes experimentos, o acompanhamento foi realizado durante a primeira hora, pois os experimentos preliminares mostraram que dependendo do processo de flotação realizado, o produto flotado começava a sedimentar após 1 hora, provocando perda de rendimento. Foram realizadas avaliações visuais do processo para posterior auxílio na interpretação dos resultados.

5.4.3.2 Rendimento do processo de flotação/separação

Nos mesmos experimentos para a determinação da cinética de flotação, realizou-se após 1 hora, a leitura do volume formado de cada uma das fases, sedimentado, clarificado e flotado, para determinação do rendimento do processo, através do cálculo do percentual das fases. O volume das fases é o volume real formado, medido através da leitura no funil de separação graduado, em mL, de cada uma das fases, sedimentado, clarificado e flotado. O volume total constitui o volume adicionado ao flotador composto pelo volume de suco (1.000 mL), adicionado dos volumes dos agentes clarificantes (10 mL da solução de colágeno hidrolisado, 15 mL da solução de sílica sol e mais 10, 20 ou 30 mL da solução de bentonita, dependendo da dosagem de cada tratamento), sendo o percentual das fases calculado pela Equação 2.

$$\% \text{Volume da Fase} = \frac{V_f}{V_t} \times 100 \quad (2)$$

Onde:

V_f = volume da fase (mL)

V_t = volume total (mL)

5.4.3.3 Monitoramento do grau de clarificação

Os experimentos para monitoramento do grau de clarificação foram realizados em 1,5 horas. Durante todo o experimento e a intervalos de 5 minutos foi avaliada a transmitância do clarificado, através da medida da turbidez. Para tanto, uma amostra de 15 mL era coletada através da válvula inferior do funil de separação, sem descarte do sedimentado que ia se formando devido às partículas em suspensão que não conseguiam flotar. Essa amostra era homogeneizada manualmente e sub-dividida em alíquotas de 5 mL para se realizar a leitura de transmitância em triplicata. Antes da leitura, as alíquotas eram previamente filtradas à pressão atmosférica em papel de filtro qualitativo. A primeira coleta era realizada assim que uma separação nítida das fases, clarificado e flotado superior era verificada, o que ocorria geralmente após 15 minutos de flotação, em alguns experimentos foi possível a coleta a partir de 10 minutos.

A medida da transmitância da amostra foi determinada através de método espectrofotométrico, conforme a metodologia de Reed; Hendrix; Hendrix (1986). O equipamento utilizado era da marca Micronal, modelo B342II e as determinações foram realizadas a 660 nm. Água destilada foi utilizada como referência, 100% transmitância.

5.5 Métodos analíticos usados para a caracterização do suco *core wash* e análise do produto final clarificado

A amostra de suco *core wash* foi caracterizada quanto aos seguintes parâmetros: sólidos solúveis, pH, óleo essencial, polpa sedimentável, acidez titulável, proteína, sódio, hesperidina, bioflavonóides, polifenóis, pectina total e atividade de pectinesterase. No produto clarificado obtido no processo de flotação, foram realizadas as

seguintes análises: sólidos solúveis, pH, polpa sedimentável, acidez titulável, transmitância, coloração, proteína, sódio, sólidos insolúveis totais, hesperidina, bioflavonóides e polifenóis.

O teor de sólidos solúveis foi determinado em refratômetro Leica, modelo MARK II Plus, conforme Reed; Hendrix; Hendrix (1986), com o resultado expresso pela porcentagem em massa de sólidos solúveis em solução aquosa, empregando, °Brix. A maioria dos sucos cítricos contém uma grande variedade de componentes químicos, tendo predominantes os carboidratos que representam 80% do material solúvel, sendo que metade é representada pela sacarose e a outra metade pela glucose e frutose.

O pH foi medido utilizando-se um pHmetro da marca Micronal B474, devidamente calibrado.

O teor de óleo essencial na amostra foi determinado através de destilação pelo método Scott, onde o óleo é arrastado por destilação de uma mistura álcool/óleo, esfriado em condensador, e determinado por titulação com solução de brometo/bromato, conforme metodologia proposta por Reed; Hendrix; Hendrix (1986).

A polpa sedimentável é normalmente composta por porções pequenas e finas, que se sedimentam devido a saturação do suco e/ou a uma maior densidade destas quando comparadas com a do suco propriamente dito. A maior contribuição da polpa sedimentável é a turbidez, que é uma das características indesejáveis ao produto clarificado. Embora a quantidade de polpa sedimentável seja de difícil mensuração, o método aceito internacionalmente por centrifugação foi realizado com auxílio de uma centrífuga marca FANEM, modelo EXCELSAII 206MP, na rotação de 1600 rpm, conforme metodologia de Kimball (1999).

Com relação à acidez titulável, esta foi determinada por titulação ácido/base, conforme Reed; Hendrix; Hendrix (1986) e os resultados expressos em gramas de ácido cítrico por 100 g de amostra.

A determinação de transmitância do produto clarificado foi realizada por método espectrofotométrico de Reed et al. (1986).

A coloração das amostras dos diferentes tratamentos foi avaliada utilizando-se imagens obtidas digitalmente, por câmera instalada em cabine com iluminação especialmente projetada para essa finalidade, e análise das mesmas através de software E&CS LensEye Program, versão 9.7.6, (Engineering and Syber Solutions, Gainesville, EUA), com auxílio de padrões de cores certificados na escala definida pela CIE (*Internacional Commission on Illumination*) conhecida como L^* , a^* , b^* , seguindo-se o procedimento de Luzuriaga; Balaban; Yeralan (1997). O sistema L^* , a^* , b^* consiste de um componente L^* (claridade), que se

estende de 0 (preto) a 100 (branco), e outros dois componentes cromáticos a^* (variando de verde ao vermelho) e b^* (do azul ao amarelo). A cabine de iluminação utilizada foi coberta com acrílico, tendo em sua parte superior e inferior caixas de luz e uma câmara para colocação das amostras, com dimensões internas de 42,5 x 61 x 68,6 cm. As paredes internas da cabine foram pintadas de branco para refletir a luz em todas as direções, evitando-se sombreamento sobre as amostras. A porta da cabine era mantida fechada durante a captação das imagens, visando assegurar a uniformidade da iluminação na câmara e para minimizar o efeito da iluminação exterior. Foi utilizada iluminação com quatro lâmpadas fluorescentes de 47,5 cm e 15 watt Chroma 50.

A análise de proteína baseia-se na determinação do conteúdo de nitrogênio da amostra e utilizou-se o método Kjeldahl conforme Instituto Adolfo Lutz (2008). Para transformar-se o número de gramas de nitrogênio encontrado em número de gramas de proteínas, introduziu-se o fator empírico 6,25. Amostras do produto sem tratamento, suco *core wash* reconstituído a 12°Brix, e do clarificado obtido nos experimentos 4 (680 kPa de pressão e 500 mg L-suco⁻¹ de bentonita) e 6 (680 kPa de pressão e 1.500 mg L-suco⁻¹ de bentonita) foram analisadas quanto ao teor de proteína. Essa análise foi executada nessas três amostras com o objetivo de se avaliar a influência do colágeno hidrolisado e da bentonita no teor de proteína do produto final clarificado.

O teor de sódio foi avaliado por fotometria de chama utilizando-se equipamento Micronal B462, conforme a metodologia indicada pelo Instituto Adolfo Lutz (2008). Optou-se por determinar o teor de sódio dada a exigência crescente dos consumidores por produtos com baixos teores de sódio podendo-se verificar a influência da enzima e dos agentes clarificantes, assim como do processo de flotação, no teor de sódio das amostras clarificadas.

Nos produtos líquidos ou com alto teor de umidade, costuma-se considerar o conteúdo de resíduo seco para se avaliar o teor de sólidos no produto. O teor de sólidos insolúveis totais foi determinado através da metodologia preconizada pelo Instituto Adolfo Lutz (2008).

A hesperidina é um composto que não fornece e/ou altera o sabor do produto, mas que causa problemas à qualidade do mesmo uma vez que pode precipitar na forma de partículas brancas cristalinas. Foi utilizado o método espectrofotométrico de Davis (1947), com determinação a 420 nm e adição de dietileno-glicol alcalino.

Os polifenóis e os bioflavonóides contribuem de forma indesejável à adstringência de sucos cítricos e podem causar escurecimento ao suco durante o processo de

estocagem. Níveis semi-quantitativos foram determinados espectrofotometricamente em comprimentos de onda ultravioleta e visível. Polifenóis foram determinados a 325 nm e os bioflavonóides a 280 nm, conforme Reed; Hendrix; Hendrix (1986).

O teor de pectina total foi determinada conforme metodologia da Koch Brasil (1994). As substâncias pécticas são precipitadas pelo álcool e o resíduo desta precipitação é utilizado para determinação do teor de pectina total. Carbazole e ácido sulfúrico são adicionados aos respectivos extratos e a cor vermelha produzida é medida fotometricamente.

A atividade de pectinesterase foi medida pela determinação da formação de grupos ácidos. O princípio de determinação, conforme Reed; Hendrix; Hendrix (1986), é baseado na adição de pectina cítrica à amostra, propiciando condições ótimas para a ação enzimática. Os ésteres metílicos das cadeias de pectina foram gradativamente hidrolisados a radicais carboxílicos livres, que provocam a queda de pH proporcional à intensidade da atividade enzimática sobre a pectina.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Caracterização do suco *core wash*

A Tabela 11 apresenta os resultados da caracterização físico-química da amostra de suco *core wash* utilizada nos experimentos com relação aos seguintes parâmetros: sólidos solúveis, pH, óleo essencial, polpa sedimentável, acidez titulável, sódio, proteína, hesperidina, bioflavonóides, polifenóis, pectina total e atividade de pectinesterase.

TABELA 11 - Caracterização do suco *core wash*

Parâmetro	Resultado
Sólidos Solúveis (°Brix)	49,73
pH *	4,30
Óleo Essencial (% v/v) *	0,0010
Polpa Sedimentável (% v/v) *	8,5
Acidez Titulável (g ácido cítrico 100g ⁻¹) *	1,64
Sódio (mg L ⁻¹) *	4,2
Proteína (g 100g ⁻¹) *	1,93
Hesperidina (mg L ⁻¹) **	3.580
Bioflavonóides (DO) ***	3,87
Polifenóis (DO) ***	2,36
Pectina Total (mg L ⁻¹) **	3145
Atividade de Pectinesterase (m _{eq} min ⁻¹ mL ⁻¹) *	0,31

Nota: * Esses parâmetros foram analisados com a amostra reconstituída a 11,5°Brix. ** Hesperidina e Pectina total foram analisadas com a amostra reconstituída a 11,2°Brix *** Bioflavonóides e polifenóis expressos em densidade óptica (DO).

Comparando os resultados obtidos com valores típicos para suco *core wash* relatados por Milnes; Gilad, 1995, a acidez titulável da amostra apresentou-se maior do que o relatado, 0,3 a 0,8%; assim como o de hesperidina, em que estes autores mencionam valores de 1.000 a 2.000 mg L⁻¹. O teor de polifenóis e pectina total se apresentaram dentro das faixas dos valores apresentados por estes autores (2,0 a 4,0 DO a 325 nm e 2.500 a 5.000 mg L⁻¹, respectivamente). Em função de poucos trabalhos existentes com suco *core wash*, os demais

parâmetros foram comparados com suco *pulp wash* que é obtido através de extrações sucessivas com água da polpa da fruta separada do suco principal e possuem atividade de pectinesterase de $0,5 \text{ m}_{\text{eq}} \text{ min}^{-1} \text{ mL}^{-1}$ e óleo essencial de 0,005 a 0,015% de acordo com Braddock (1999), cujos valores foram menores no suco *core wash*. Kimball (1999) indica que o teor de polpa sedimentável em sucos de laranja normalmente varia de 8,0% a 12,0%, o que é compatível com o valor encontrado no suco *core wash*.

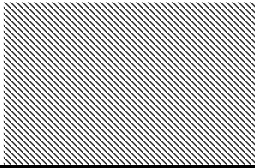
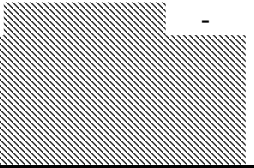
6.2 Tratamento enzimático

A Tabela 12 mostra os resultados dos tratamentos enzimáticos do suco *core wash* reconstituído a 12°Brix, com a enzima poligalacturonase purificada, com uma mistura de enzimas com predominância da poligalacturonase, com uma mistura de enzimas com predominância de pectina liase e com a enzima pectina liase purificada. A Prova do Álcool realizada a cada 30 minutos, em triplicata, objetivou verificar se houve a degradação da pectina. O aparecimento de turbidez ou flocos, resultado positivo (+) indicou pectina não degradada. Nenhum sinal de floculação indicou resultado negativo (-) e significou que toda a pectina foi degradada. Analisando-se estes resultados, observa-se que a enzima pectina liase purificada não degradou a pectina em 4 horas de tratamento, mostrando-se inadequada para a aplicação proposta já que a manutenção do suco a 45°C durante 4 horas poderia fermentar e/ou degradar seus compostos. As demais enzimas apresentaram os seguintes tempos para a degradação da pectina: a enzima hidrolase (poligalacturonase) purificada, em todas as repetições foi de 1,0 hora, para a mistura de enzimas com predominância de hidrolase (poligalacturonase) o tempo foi de 1,0, 1,5 e 2,0 horas e para a mistura de enzimas com predominância de pectina liase, a degradação ocorreu com 1,0, 1,0 e 1,5 horas.

Esperava-se das enzimas pectinolíticas testadas capacidade para hidrolisar a cadeia de pectina até sua eliminação total, promovendo a dissolução da protopectina e a degradação da pectina solúvel e dos polissacarídeos, os quais provocam a turvação no suco, causando floculação do complexo pectina-proteína, facilitando a clarificação através de flotação, auxiliada pelos agentes clarificantes. Os resultados apresentados indicam que a degradação da pectina no menor tempo e na dosagem de $0,05 \text{ mg L-suco}^{-1}$ ocorreu com a enzima Pectinex YieldMASH, ou poligalacturonase purificada; que foi considerada como a mais adequada para a aplicação proposta. Esse resultado, ou seja, a degradação enzimática da

pectina em 1 hora a 45°C, confirma o recomendado por Lea (1998) para a despectinização de sucos de frutas.

TABELA 12 - Resultados dos ensaios de enzimação

Tempo (min)	Hidrolase (poligalacturonase) purificada			Mistura com predominância de hidrolase (poligalacturonase)			Mistura com predominância de Pectina Liase			Pectina Liase purificada		
30	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
60	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+
90	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+
120				-	+	-				+	+	+
150				-	-	-				+	+	+
180				-	-	-				+	+	+
210				-	-	-				+	+	+
240				-	-	-				+	+	+

6.3 Tratamento com colágeno hidrolisado e sílica sol

6.3.1 Capacidade floculante

(i) Ensaios com soluções de reagentes puros

Verificou-se que nos ensaios com 2,5, 5,0 e 7,5 mg (L de ácido tânico)⁻¹ (Tabela 5) foi possível ver claramente a reação do colágeno hidrolisado com ácido tânico, através da formação de estrias de floculação penetrando na solução, que com a evolução provoca turvação na solução e pode-se observar, em alguns casos, sedimentação. Além disso, verificou-se a formação de um anel na parte superior do tubo de ensaio, o qual ou se desfez com o tempo, indicando reação positiva; ou se manteve firme na superfície do líquido, indicando reação negativa (Figura 19). O tubo de ensaio com 5,0 mg (L de ácido tânico)⁻¹ ilustra o resultado positivo. Embora prejudicada na imagem, foi possível verificar que nos ensaios com 2,5 e 7,5 mg (L de ácido tânico)⁻¹ houve formação de estrias. Na concentração de 1,0 mg (L de ácido tânico)⁻¹, a reação com o tanino foi de difícil visualização. A Figura 20 mostra exemplo típico de um resultado positivo (tubo da direita) e um negativo (tubo da esquerda) para a Prova de Excesso de Clarificação.

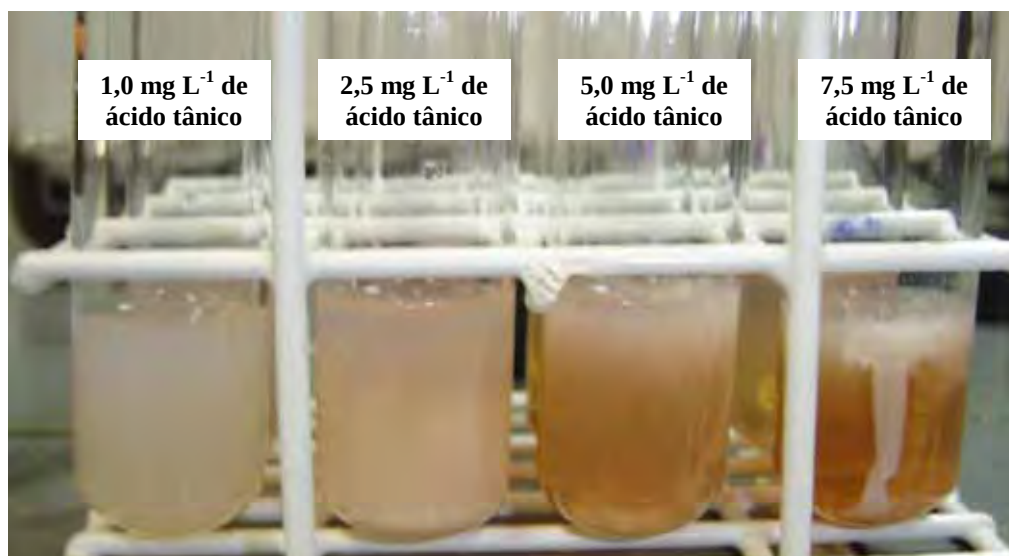


FIGURA 19 – Ácido tânico em diferentes concentrações indicando os resultados de sua reação com o colágeno hidrolisado

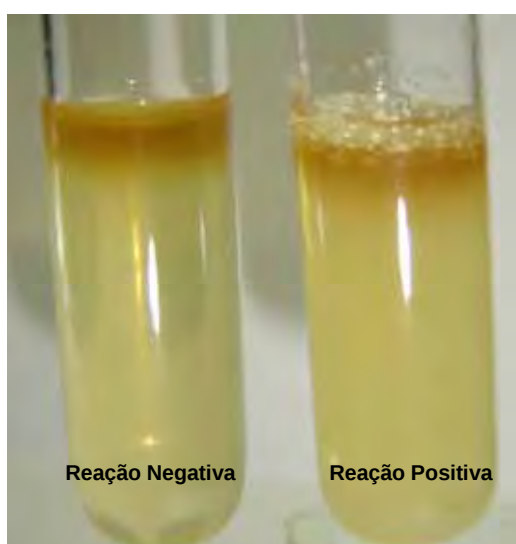


FIGURA 20 - Prova de Excesso de Clarificação

(ii) Aumento da concentração da solução de colágeno hidrolisado e da solução de ácido tânico

Com a aplicação dessa metodologia tornou-se possível verificar que no caso da Prova de Excesso de Clarificação, as gotas de ácido tânico a 5,0% (m/v), melhoraram a visualização da ocorrência da reação, através da manutenção de um anel firme. Na Prova de Insuficiência de Clarificação, quando da dosagem de gotas de colágeno hidrolisado a 5,0% (m/v), as leituras não foram conclusivas.

(iii) Filtração prévia da amostra sob vácuo

As leituras com reação positiva ou negativa foram consideradas insatisfatórias, pois não foi possível distinguir resultados “positivos” dos “negativos” em nenhum dos ensaios

realizados, com insuficiência ou excesso de colágeno hidrolisado, concluindo-se pela não realização da pré-filtração do suco.

(iv) Centrifugação prévia da amostra

Foi possível confirmar a ocorrência de leitura do resultado negativo para a Prova de Excesso de Clarificação do ensaio 6 da Tabela 8 (0,20 mL L-suco⁻¹ de sílica sol e 30 mg L-suco⁻¹ de colágeno hidrolisado), sem pré-tratamento. Ao se dosar as gotas de ácido tânico pôde-se verificar a formação de um anel persistente, não reativo e a não ocorrência de estrias ou turvação do produto. Na Prova de Insuficiência de Clarificação não foram observadas alterações nas soluções, inclusive nas que baixas concentrações de colágeno haviam sido adicionadas (ensaios 3 e 6, ambos com 30 mg L-suco⁻¹ de colágeno hidrolisado, Tabela 8). Os resultados obtidos nas amostras previamente centrifugadas (ensaios 1, 2 e 3, Tabela 8) não foram satisfatórios e se apresentaram mais turvos, com difícil confirmação; concluindo-se pela não realização da centrifugação prévia do suco.

(v) Concentração fixa de sílica sol

O objetivo foi a determinação das reações positivas e negativas para a Prova de Insuficiência da Clarificação. Os tratamentos com 0 e 50 mg L-suco⁻¹ de colágeno hidrolisado (ensaios 1, 2, 9, 10, 17 e 18, Tabela 9) se apresentaram ligeiramente mais claros que os demais. Esta maior clarificação se deveu às partículas coloidais ainda em suspensão, mesmo após o tratamento e que não reagiram em função da pequena concentração (50 mg L-suco⁻¹) ou ausência de colágeno hidrolisado, as quais reagem com as gotas de colágeno hidrolisado adicionadas aumentando a clarificação do produto. Esses resultados indicam que a concentração de 50 mg L-suco⁻¹ de colágeno hidrolisado é insuficiente para a clarificação, contudo as diferenças com relação aos demais ensaios foram muito pequenas não se obtendo resultados conclusivos para a determinação de reações positivas e negativas na Prova de Insuficiência de Clarificação.

Os resultados sobre a avaliação da capacidade flocculante dos agentes colágeno hidrolisado e sílica sol no suco sugerem: (1) aplicar a Prova de Excesso de Clarificação (item [ii]), através da reação com o ácido tânico a 5,0% (m/v), (2) não adotar a Prova de Insuficiência da Clarificação em função da dificuldade de determinação dos resultados positivos e negativos, e, (3) descartar o tratamento prévio das amostras, seja por centrifugação ou por filtração à vácuo.

6.3.2 Determinação das dosagens de colágeno hidrolisado e sílica sol

Os resultados da aplicação da metodologia de avaliação da clarificação através da leitura de transmitância no produto clarificado e da Prova de Excesso de Clarificação, variando-se a concentração do colágeno hidrolisado em 50, 75 e 100 mg L-suco⁻¹ são apresentados na Tabela 13.

TABELA 13 – Resultados do tratamento com colágeno hidrolisado

Concentração de colágeno hidrolisado (mg L ⁻¹)	Transmitância % (T ± desvio padrão)	Prova de Excesso de Clarificação
50	66,4 ± 1,3	Ambos os tubos: Anéis firmes, estrias leves
75	82,4 ± 7,1	Ambos os tubos: Anéis firmes, estrias leves
100	85,2 ± 1,6	Tubo 1: Estrias leves e anel levemente dissolvido, porém produto ainda claro Tubo 2: anel firme, estrias leves

Com os resultados apresentados na Tabela 13, pode-se afirmar que não houve adição de colágeno hidrolisado em excesso, uma vez que em nenhum dos tubos ocorreu reação da solução de ácido tânico com os componentes da amostra. A concentração de 100 mg L-suco⁻¹ de colágeno hidrolisado parece ser indicativo do limite máximo a ser utilizado em função de pequena formação de estrias e anel reativo levemente dissolvido observado em uma das duplicatas, embora não tenha chegado a turvar a amostra. A maior transmitância na concentração de 100 mg L-suco⁻¹ indica objetivamente o produto mais clarificado.

A Tabela 14 apresenta os resultados da aplicação da mesma metodologia utilizada na definição do colágeno hidrolisado, aplicada para a determinação da sílica sol, variando-se a concentração da mesma em 0,15, 0,20 e 0,25 mL L-suco⁻¹, com dosagem de 100 mg L-suco⁻¹ de colágeno hidrolisado. Com base nos resultados pode-se afirmar que não há colágeno hidrolisado em excesso uma vez que em nenhum dos tubos ocorreu reação da solução do ácido tânico com os componentes da amostra, tendo o anel reativo se mantido firme. Leves estrias indicam que a dosagem está no limite desejável, obtendo assim a máxima clarificação do produto, sem provocar turbidez devido a excesso de proteína, confirmando os resultados obtidos nos ensaios para a definição da concentração do colágeno hidrolisado.

Através dos resultados obtidos para a transmitância, pode-se concluir que a melhor combinação de agentes clarificantes é de 0,15 mL L-suco⁻¹ de sílica sol e 100 mg L-suco⁻¹ de colágeno hidrolisado, sendo esta combinação que apresentou a maior transmitância.

TABELA 14 – Resultados do tratamento com sílica sol e 100 mg L-suco⁻¹ de colágeno hidrolisado

Concentração de sílica sol (mL L⁻¹)	Transmitância %(T ± desvio padrão)	Prova de Excesso de Clarificação
0,15	83,3 ± 2,3	Ambos os tubos: Anéis firmes, estrias leves
0,20	68,1 ± 0,4	Ambos os tubos: Anéis firmes, estrias leves
0,25	80,7 ± 1,8	Ambos os tubos: Anéis firmes, estrias leves

6.4 Clarificação por flotação auxiliada pelos agentes clarificantes

Conforme o planejamento experimental proposto na Tabela 10 os experimentos de flotação foram realizados para obtenção do suco clarificado e avaliação dos efeitos da pressão e da concentração de bentonita no processo de flotação.

A flotação se mostrou difícil nos experimentos 1, 4 e 7; nos quais foram utilizados 500 mg L-suco⁻¹ de bentonita (Figura 21). Nestes experimentos, independentemente da pressão aplicada durante a flotação, as primeiras separações de fases se iniciavam somente a partir de 30 minutos aproximadamente, enquanto que nos experimentos com outras dosagens de bentonita, com aproximadamente 15 minutos foi possível observar a separação das fases. Além disso, houve a formação de uma quantidade de sedimentado superior à formada nos demais experimentos e o produto se apresentou mais turvo que os demais.

No processo de flotação, o ar em excesso é liberado sob a forma de microbolhas que se aderem à fase em suspensão e flotam. A Figura 22 exemplifica este processo, verificando-se o início do processo, com 9 minutos de flotação, e o final do mesmo, com 1:12 hora, para o experimento 9 (880 kPa/1.500 mg L-suco⁻¹ de bentonita).

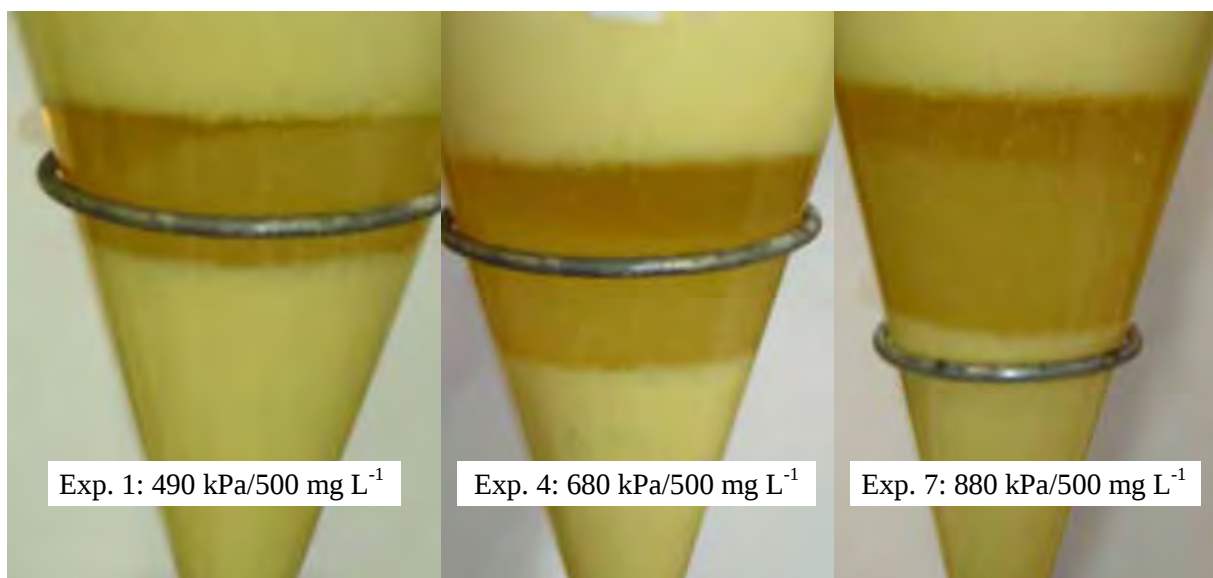


FIGURA 21 – Fotografia das flotações dos experimentos 1, 4 e 7

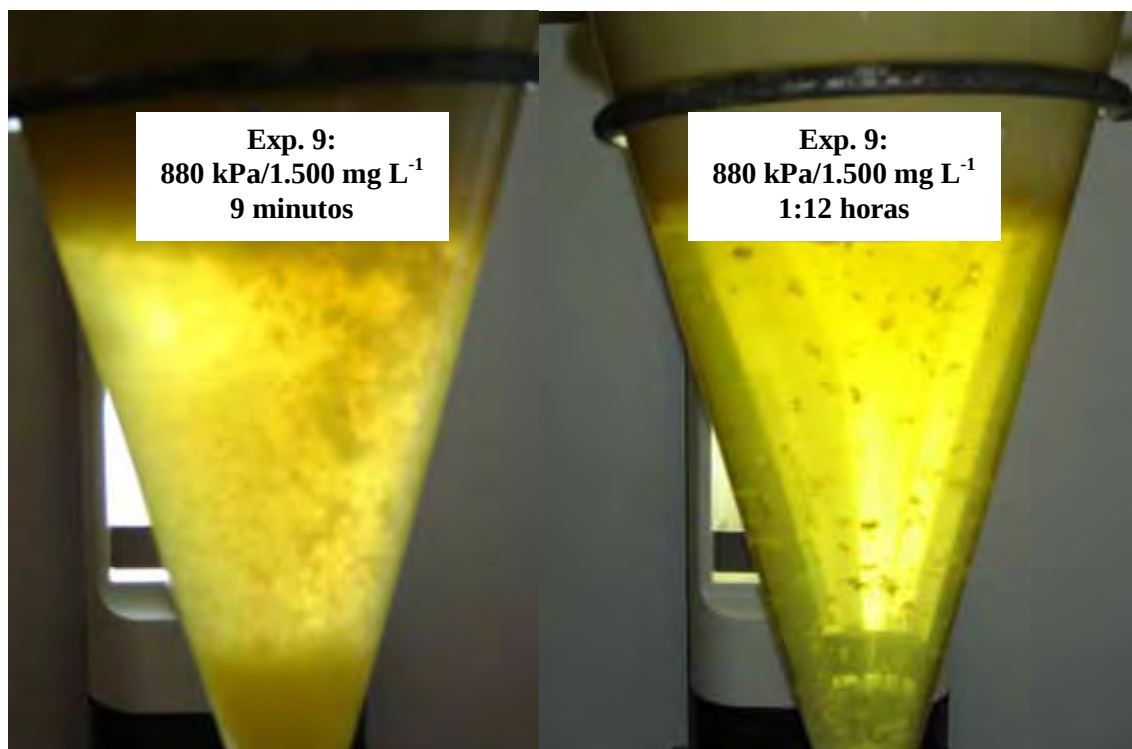


FIGURA 22 – Fotografia da flotação do experimento 9, com 9 minutos e 1:12 horas

6.4.1 Cinética de flotação/separação

Com base no acompanhamento de formação e separação das fases ao longo do processo de flotação, a cinética de formação do clarificado e do flotado foi analisada. Os

resultados para os volumes de clarificado e flotado formados em função do tempo do processo, das duas repetições de cada condição investigada, são apresentados nas Figuras 23, 24 e 25.

Analisando-se os resultados, observa-se que o comportamento da cinética de formação do clarificado e do flotado de todos os tratamentos foram similares, apresentando uma maior velocidade de flotação/separação nos 20 minutos iniciais após o início da formação do clarificado, o qual é muito influenciado pelos teores de bentonita e das pressões utilizadas.

Observa-se nos experimentos 4 (680 kPa, 500 mg L-suco⁻¹ de bentonita) e 7 (880 kPa, 500 mg L-suco⁻¹ de bentonita) o início da formação das fases mais tardiamente, com 30,0 e 27,5 minutos, respectivamente, demonstrando a influência da concentração de bentonita na velocidade do processo de flotação/separação.

Avaliando-se os dados dos tratamentos com os mesmos teores de bentonita e diferentes pressões aplicadas, observa-se a influência significativa da pressão na velocidade do processo de flotação/separação, pelo fornecimento de maior quantidade de ar para o líquido devido às maiores pressões e o ar em excesso ser liberado sob a forma de microbolhas quando ocorre a despressurização do flotador, as quais aderem à fase em suspensão promovendo a flotação. Com mais gás dissolvido no líquido (suco), mais microbolhas são formadas e a cinética de flotação/separação ocorre de forma mais rápida.

A partir dos resultados das frações volumétricas de clarificado em função do tempo, foram calculadas as velocidades de formação do clarificado com base nos 10 minutos iniciais do processo de separação, considerando ser o período inicial o mais significativo para desencadear o processo de flotação/separação de fases que sucede a etapa de despressurização.

Os dados de cada experimento foram tratados numericamente, empregando um software Microcal Origin, v. 6.0, que utiliza a suavização por filtro Savitzky-Golay. O algoritmo de Savitzky-Golay é um método de suavização que realiza uma regressão polinomial ao redor de cada ponto. Neste método, a curva suavizada é obtida através de ajustes dos pontos do intervalo por um polinômio e não pela simples média dos pontos vizinhos (ARAÚJO, 2007). A partir da curva suavizada é calculada a derivada primeira que representa a velocidade de formação do clarificado (dV/dt); e portanto, da flotação (Tabela 15).

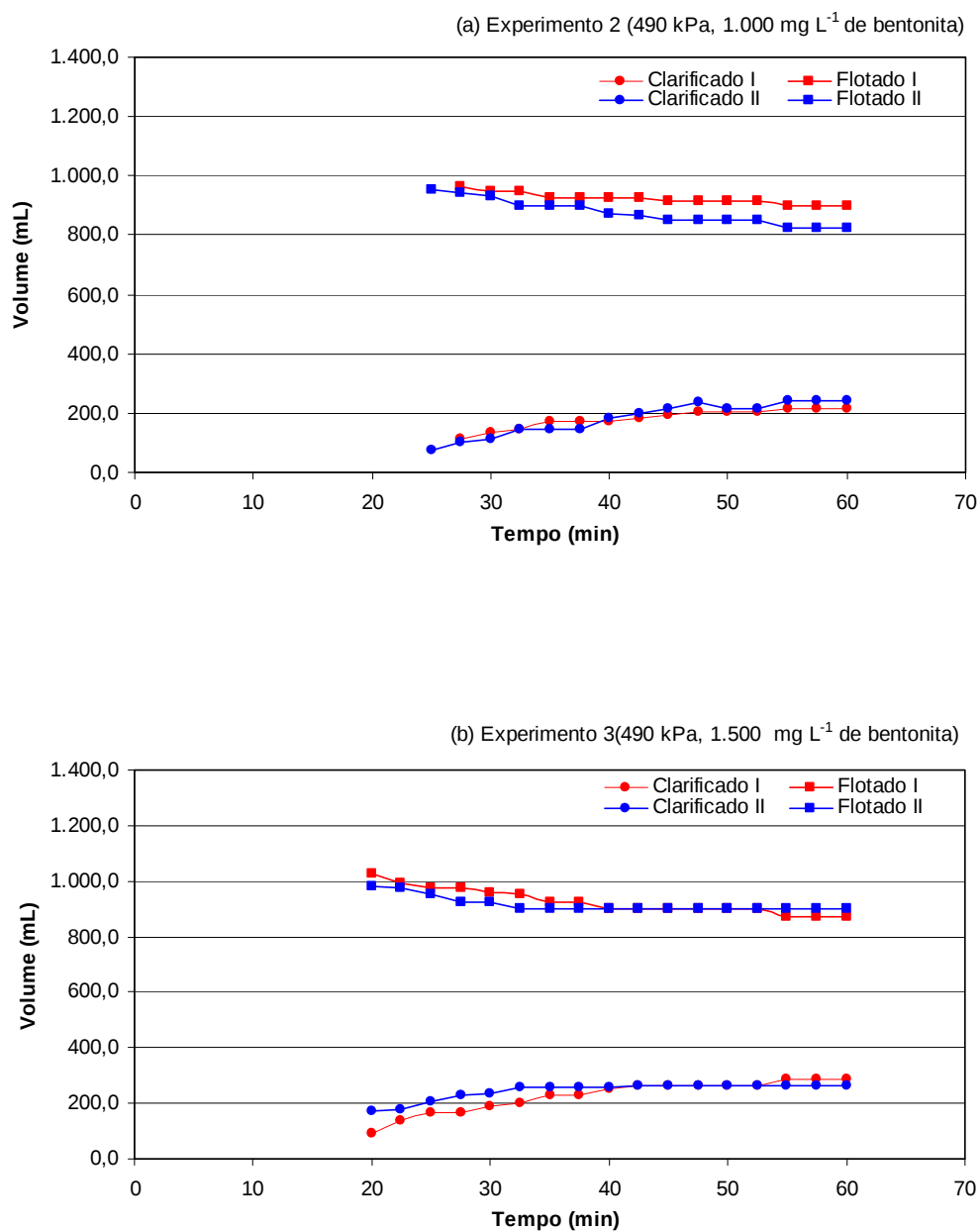


FIGURA 23 - Resultados das frações volumétricas de clarificado

(a) Experimento 2 (490 kPa, 1.000 mg L⁻¹ de bentonita)

(b) Experimento 3 (490 kPa, 1.500 mg L⁻¹ de bentonita)

NOTA I: Linhas contínuas foram traçadas somente para facilitar a leitura.

NOTA II: Clarificado e Flotado I e II: referem-se às duplicatas I e II.

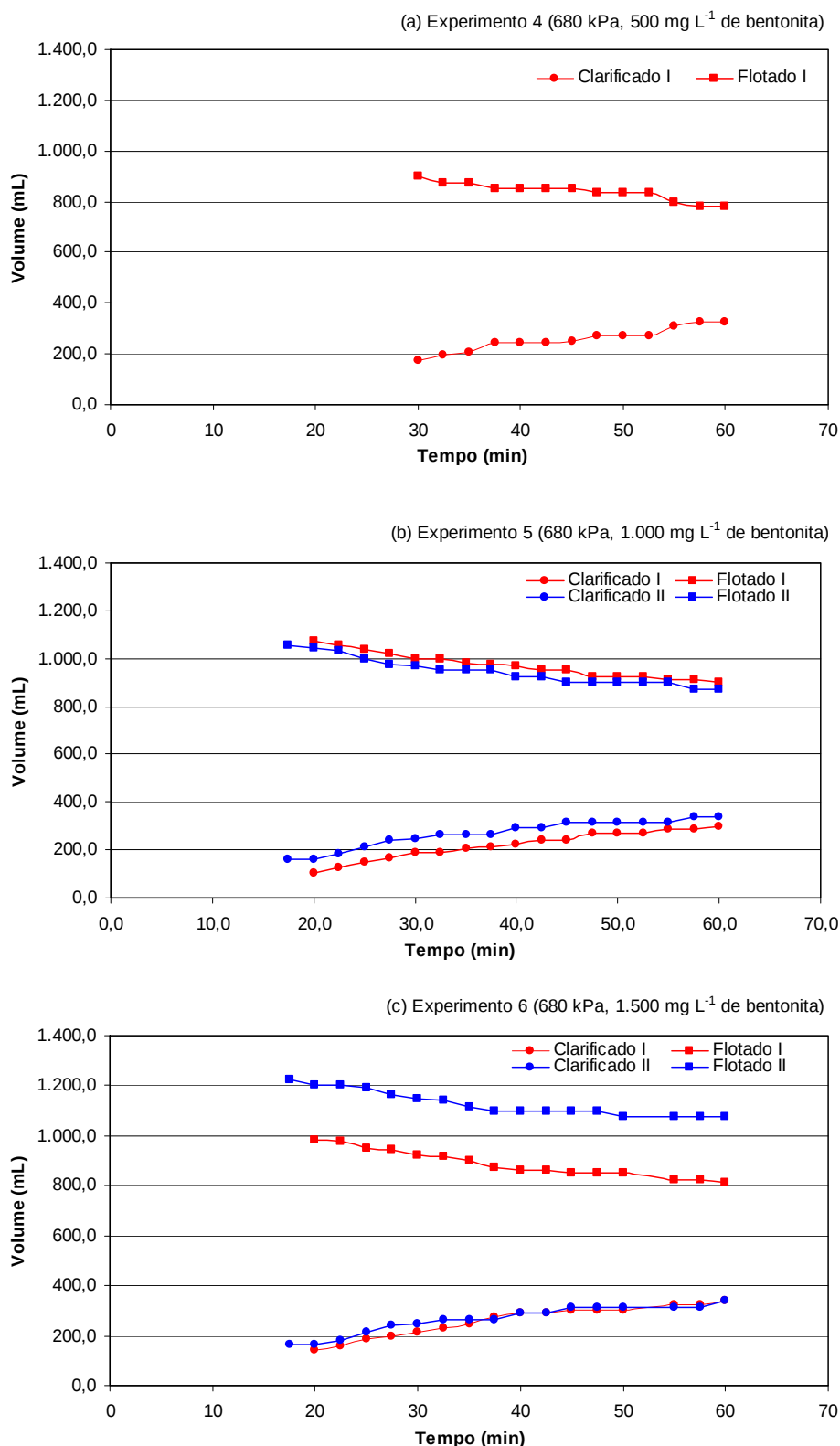


FIGURA 24 - Resultados das frações volumétricas de clarificado

(a) Experimento 4 (680 kPa, 500 mg L⁻¹ de bentonita)

(b) Experimento 5 (680 kPa, 1.000 mg L⁻¹ de bentonita)

(c) Experimento 6 (680 kPa, 1.500 mg L⁻¹ de bentonita)

NOTA I: Linhas contínuas foram traçadas somente para facilitar a leitura.

NOTA II: Clarificado e Flotado I e II: referem-se às duplicatas I e II.

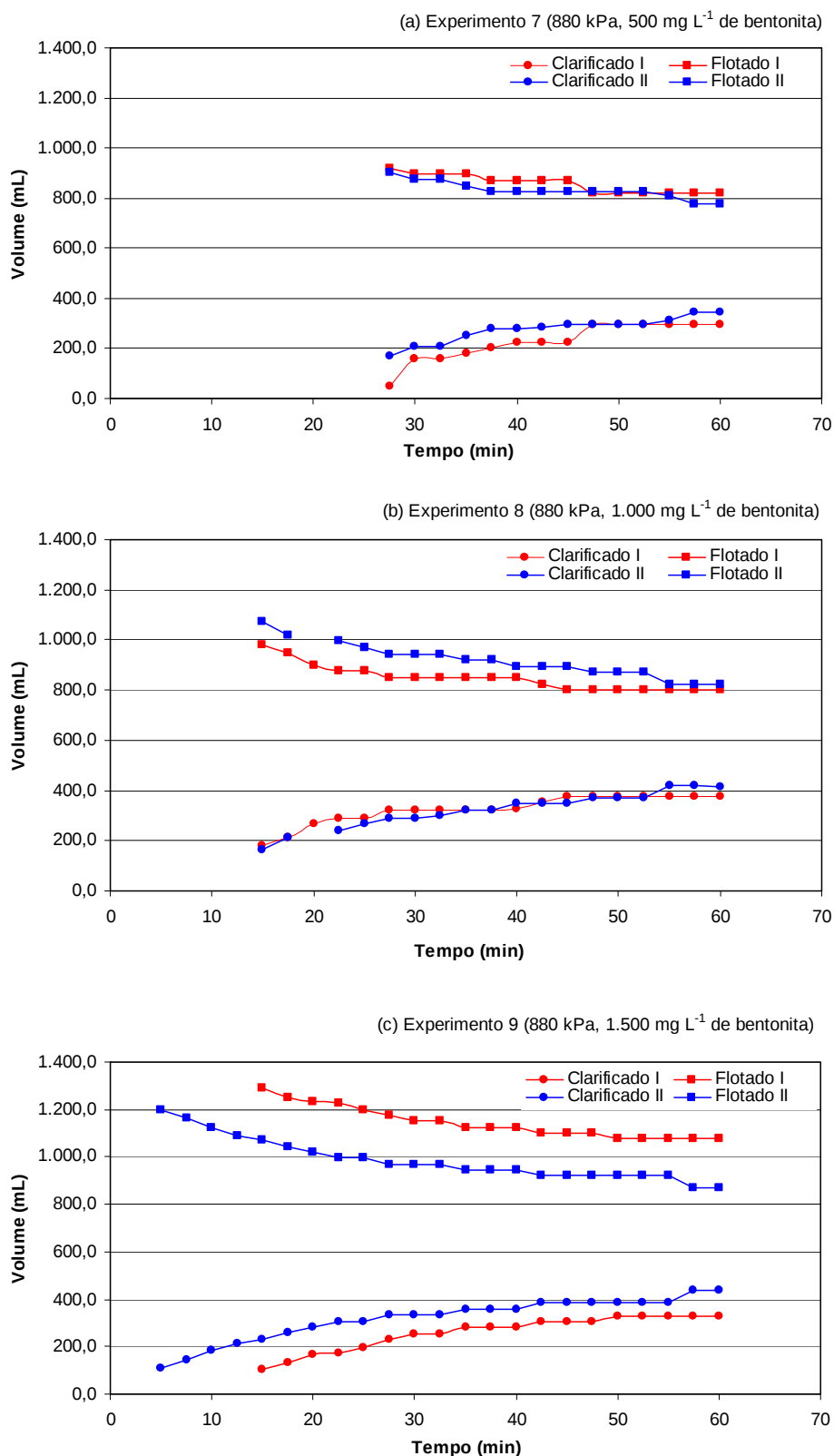


FIGURA 25 - Resultados das frações volumétricas de clarificado

(a) Experimento 7 (880 kPa, 500 mg L⁻¹ de bentonita)

(b) Experimento 8 (880 kPa, 1.000 mg L⁻¹ de bentonita)

(c) Experimento 9 (880 kPa, 1.500 mg L⁻¹ de bentonita)

NOTA I: Linhas contínuas foram traçadas somente para facilitar a leitura.

NOTA II: Clarificado e Flotado I e II: referem-se às duplicatas I e II.

TABELA 15 – Resultados da cinética de flotação/separação das fases

<i>Experimento</i>	<i>Pressão (kPa)</i>	<i>[Bentonita] (mg L⁻¹)</i>	<i>Velocidade (mL min⁻¹) (dV/dt)</i>	<i>Velocidade Média (mL min⁻¹)</i>
1	490	500	* *	-
2	490	1.000	6,28 12,5	9,39 ± 4,40
3	490	1.500	8,56 7,00	7,78 ± 1,10
4	680	500	7,40 *	7,40
5	680	1.000	8,20 8,32	8,26 ± 0,08
6	680	1.500	8,20 5,64	6,92 ± 1,81
7	880	500	13,04 10,52	11,78 ± 1,78
8	880	1.000	11,64 9,36	10,50 ± 1,61
9	880	1.500	8,92 12,5	10,71 ± 2,53

NOTA: * Não separação das fases.

O experimento 1 (pressão de 490 kPa e 500 mg L-suco⁻¹ de bentonita) apresentou muita dificuldade de flotação, apresentando velocidade de formação de clarificado muito baixa, sendo somente possível a realização de leituras aos 40 minutos após do início do processo, fornecendo poucos pontos e impossibilitando a determinação numérica da velocidade de formação do clarificado. O experimento 4 (pressão de 680 kPa e 500 mg L-suco⁻¹ de bentonita) também mostrou ser de difícil flotação, não sendo possível a obtenção de dados confiáveis em uma das repetições.

Analisando as médias da velocidade de formação do clarificado agrupados em função da pressão aplicada (Tabela 16), observa-se que as velocidades nos experimentos flotados com pressão de 490 e 680 kPa foram semelhantes. Contudo, ao avaliar o resultado do experimento flotado com pressão de 880 kPa, verifica-se que a velocidade média obtida foi maior. O aumento da velocidade de flotação está relacionado ao aumento da solubilidade do gás no líquido com a pressão. Maior diferença de pressão na fase líquida com relação a atmosférica faz com que a energia a ser transferida às microbolhas seja menor, ocorrendo uma maior formação de bolhas em menos tempo e aumentando assim a velocidade de flotação.

TABELA 16 – Resultados da cinética de flotação/separação das fases agrupados em função da pressão

Pressão (kPa)	[Bentonita] (mg L ⁻¹)	Velocidade (mL min ⁻¹) (dV/dt)	Média
490	500	*	8,59 ± 1,14
	1.000	9,39	
	1.500	7,78	
680	500	7,40	7,53 ± 0,68
	1.000	8,26	
	1.500	6,92	
880	500	11,78	11,00 ± 0,69
	1.000	10,50	
	1.500	10,71	

NOTA: *Não separação das fases.

6.4.2 Rendimento do processo de flotação

A Tabela 17 apresenta os resultados de rendimento calculado para o processo de flotação com base nas medições dos volumes de cada uma das fases, sedimentado, clarificado e flotado, após 1 hora de flotação, bem como os valores do percentual das fases. Pode-se observar que a somatória dos percentuais das fases fornece números maiores que 100%, devido ao aumento do volume do flotado, através da formação de uma espuma na despressurização do flotador. O volume total de flotado considerado nos cálculos foi o volume real lido após toda a transferência do produto e despressurização total do flotador incluindo a espuma formada.

Com relação às frações obtidas, obteve-se 38% como máximo de recuperação de suco clarificado (Experimento 8 – 880 kPa/ 1.000 mg L-suco⁻¹ de bentonita); sendo a média dos tratamentos a pressão de 880 kPa de 35% de clarificado. Essa recuperação que pode ser considerada aparentemente baixa precisaria ser melhorada visando aplicações industriais. Trabalhos futuros devem ser realizados objetivando-se aumentar esse rendimento e estudar formas de recuperação dos sólidos solúveis que ainda ficam agregados às partículas flotadas.

A Figura 26 apresenta os volumes percentuais de clarificado formado, em função dos teores de bentonita dosados e da pressão aplicada na flotação. Observa-se que quando a pressão aplicada foi de 490 kPa, são significativas as diferenças no volume de clarificado formado em função do teor de bentonita. A análise estatística dos resultados,

demonstra a forte influência da pressão aplicada, independente do teor de bentonita dosado, nos experimentos com pressões de 680 e 880 kPa, para as quais não foram encontradas diferenças nos volumes de clarificado obtidos (5% significância, teste-t); porém foram encontradas diferenças ao se comparar os experimentos flotados com 490 e 680 kPa (valor $p < 0,05$); e, 490 e 880 kPa (valor $p < 0,05$).

TABELA 17 – Frações volumétricas das fases: sedimentado, clarificado e flotado

Experimento	Volume das fases (mL)			Volume total (mL)	Percentual da fase (%)			
	Sed.	Clarif.	Flot.		Sed.	Clarif.	Flot.	Total
1	325,0 ± 35,4	125,0 ± 35,4	700,0 ± 70,7	1.035	31,4	12,1	67,6	111,1
2	83,0 ± 0	229,5 ± 17,7	862,5 ± 53,0	1.045	7,9	22,0	82,5	112,4
3	62,5 ± 0	276,3 ± 15,9	887,5 ± 17,7	1.055	5,9	26,2	84,1	116,2
4*	143,0	327,0	780,0	1.035	13,8	31,6	75,4	120,8
5	43,8 ± 12,4	318,8 ± 30,1	887,5 ± 17,7	1.045	4,2	30,5	84,9	119,6
6	42,5 ± 10,6	327,5 ± 17,7	930,0 ± 169,7	1.055	4,0	31,0	88,2	123,2
7	130,0 ± 38,2	320,0 ± 38,2	797,5 ± 31,8	1.035	12,6	30,9	77,1	120,5
8	29,0 ± 8,5	396,0 ± 26,9	810,0 ± 14,1	1.045	2,8	37,9	77,5	118,2
9	29,5 ± 20,5	383,0 ± 73,5	972,5 ± 145,0	1.055	2,8	36,3	92,2	131,3

NOTA: Sed. = sedimentado, clarif. = clarificado e flot. = flotado. * Experimento sem duplicata; fases não separadas.

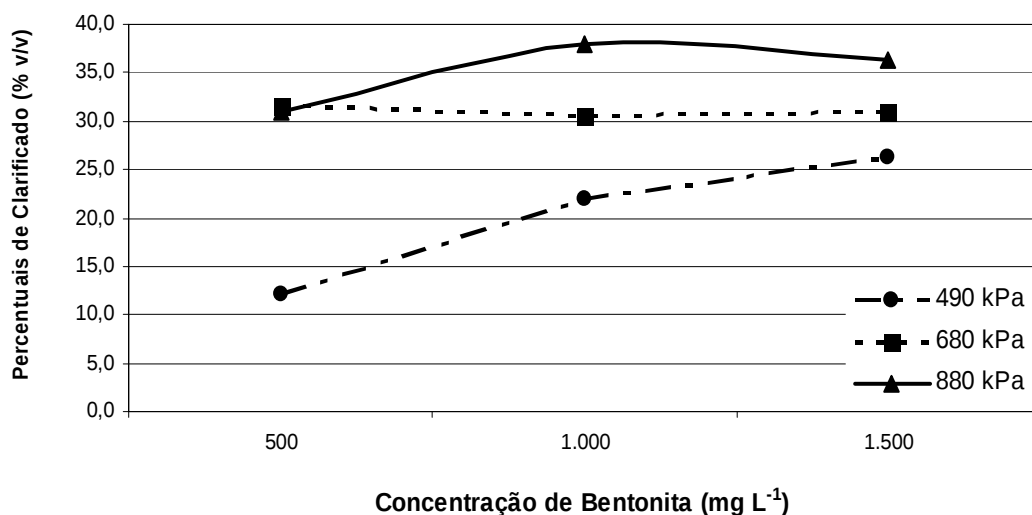


FIGURA 26 - Resultados dos percentuais de volume de clarificado obtido

NOTA: Linhas contínuas foram traçadas somente para facilitar a leitura.

Ainda com relação à separação da fase clarificada, observa-se que quanto maior o teor de bentonita dosado, maior a quantidade de clarificado formado (Figura 26). Este fato também pode ser comprovado através dos resultados obtidos para os experimentos 1 (490

kPa/500 mg L-suco⁻¹ de bentonita) e 3 (490 kPa/1.500 mg L-suco⁻¹ de bentonita) apresentados na Figura 27. Contudo, quando 680 e 880 kPa de pressão são aplicadas, são menores as diferenças entre os volumes de clarificado formado nos tratamentos com diferentes dosagens de bentonita. Com maiores pressões tem-se mais ar dissolvido no suco, nesses casos o teor de bentonita exerce uma influência menor na flotação do que a pressão. Quando baixas pressões são utilizadas, a bentonita tem um papel mais significativo na clarificação.

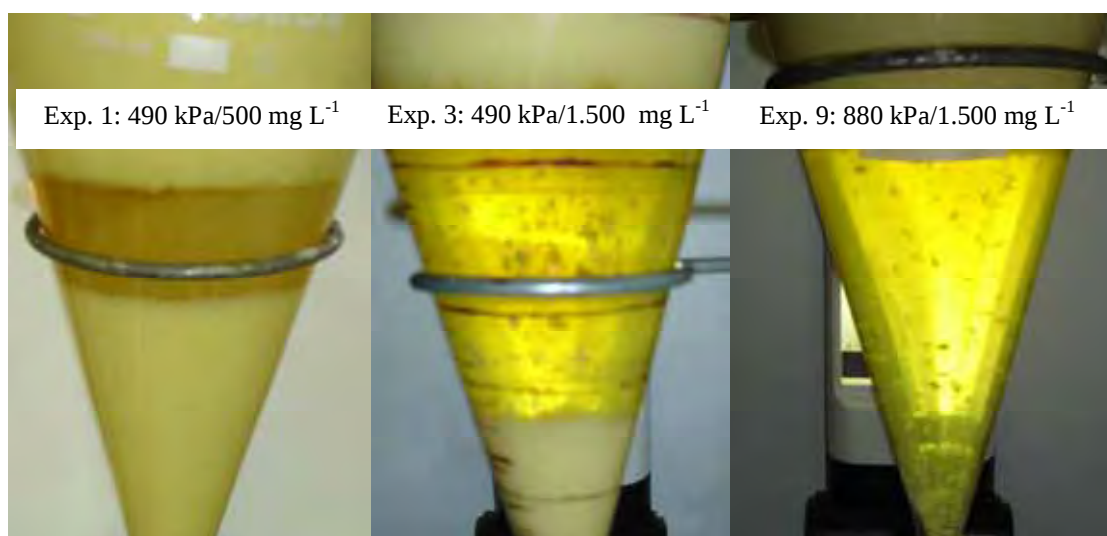


FIGURA 27 – Fotografia das flotações dos experimentos 1, 3 e 9

O processo de flotação por ar dissolvido aproveita-se das vantagens do efeito da pressão na solubilidade dos gases nos líquidos. Em altas pressões, aumenta a quantidade de gás dissolvido no líquido, com a consequência de maior quantidade ser liberada da solução quando a pressão é reduzida na etapa de despressurização, favorecendo o efeito desejável de flotação/separação. Segundo Féris; Rubio (1999) a quantidade de gás que é liberada na flotação por ar dissolvido é determinada pela Lei de Henry, que estabelece a relação direta de proporcionalidade entre a solubilidade de um gás em um líquido e a pressão do gás, conforme Equação 3. Aplicando a Lei de Henry para as pressões utilizadas neste trabalho, foram calculadas as concentrações de ar dissolvidas no líquido; neste caso, no suco a ser flotado, (Tabela 18). Para os cálculos, empregou-se a constante da Lei de Henry, a 25°C, obtida de Perry; Chilton (1980), considerando o ar atmosférico composto de 78% de N₂ e 22% de O₂.

$$P = H X_{\text{ar}} \quad (3)$$

Onde:

P = pressão (atm)

X_{ar} = fração molar de ar no líquido, FM = (número moles ar) (número moles líquido total)⁻¹

H = constante da Lei de Henry, $7,2 \times 10^4$ (atm FM⁻¹) a 25°C.

TABELA 18 – Efeito da pressão no flotador na concentração de ar dissolvido

Pressão (kPa)	490	680	880
Concentração de ar dissolvido (ppm)	109	152	196

A influência da pressão sobre os volumes das fases fica evidenciada ao se analisar a Figura 28 que apresenta o percentual de volume de sedimentado formado, em função dos teores de bentonita dosados e da pressão aplicada na flotação. Observa-se que com a pressão de 490 kPa, os volumes de sedimentado formados são maiores quando comparam-se os tratamentos com os mesmos teores de bentonita.

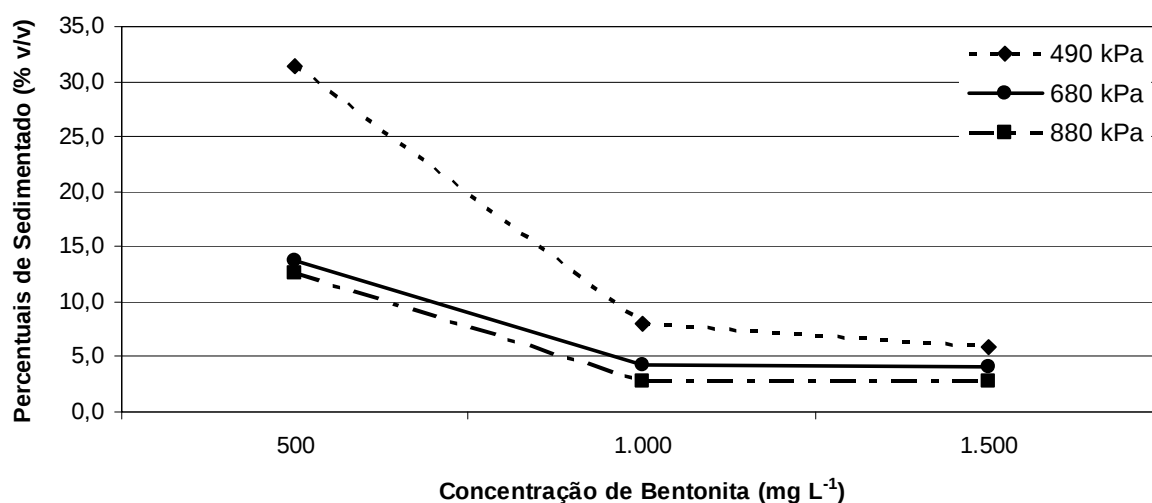


FIGURA 28 - Resultados dos percentuais de sedimentado obtido

NOTA: Linhas contínuas foram traçadas somente para facilitar a leitura.

6.4.3 Monitoramento do grau de clarificação

Os resultados obtidos para os experimentos com monitoramento do grau de clarificação ao longo do processo de flotação/separação estão apresentados nas Figuras 29 e 30, de forma agrupada em função do teor de bentonita dosado e da pressão aplicada na

flotação, respectivamente. Analisando a Figura 29b, observa-se que maiores teores de bentonita mantêm a transmitância mais estável, para todos os níveis de pressão aplicada, durante todo o processo de flotação. Este fato provavelmente está relacionado com a maior estabilidade do flotado formado, quando empregado maiores dosagens de bentonita ($1.500 \text{ mg L-suco}^{-1}$) e menor desprendimento de partículas por sedimentação.

Nos tratamentos em que foram utilizados $1.000 \text{ mg L-suco}^{-1}$ de bentonita, observou-se que aproximadamente após 45 a 60 minutos do início da flotação havia o desprendimento de partículas com movimento descendente no clarificado e se sedimentam com o material já depositado, continuando após esse período a ocorrer o desprendimento de partículas, contudo em menor volume. Nesse intervalo de tempo (entre 45 e 60 minutos após a flotação), no procedimento de coleta de amostra, o material sedimentado era coletado juntamente com o clarificado, que apesar de separado por filtração e devido ao contato e possível interação com o clarificado (alíquota em pequenos volumes, 15 mL) pode ter influenciado no resultado. Em função deste fato, foi observada queda na transmitância neste intervalo de tempo, com sua retomada posterior (Figura 30). A Figura 31 apresenta uma fotografia da separação das fases com destaque para partículas em desprendimento.

Conforme já apresentado no início deste capítulo, os experimentos 1, 4 e 7 apresentaram-se com deficiência na flotação/separação, sendo assim, esse acompanhamento foi realizado somente nos experimentos com dosagens de 1.000 e $1.500 \text{ mg L-suco}^{-1}$ de bentonita.

Da análise da Figura 30, observa-se que conforme se aumenta a pressão aplicada na flotação, a curva de transmitância para o tratamento em que foi dosado $1.000 \text{ mg L-suco}^{-1}$ de bentonita, apresenta uma queda menos acentuada, devido ao efeito da pressão no processo. Microbolhas são formadas pela cavitação, fenômeno de vaporização de um líquido pela redução da pressão durante seu movimento formando bolhas, seguida pela liberação do gás no líquido saturado (FÉRIS; RUBIO, 1999). O excesso de pressão fornece energia adicional para a nucleação das bolhas, favorecendo a flotação e interferindo no aumento da transmitância em pressões mais elevadas.

A influência da pressão no favorecimento da flotação e no aumento da transmitância também foi constatada na dificuldade de flotação em pressões inferiores à 400 kPa, nos experimentos preliminares realizados. Pressões relativamente baixas não fornecem energia suficiente para superar o atrito e a nucleação e portanto, produzir as bolhas. Além disso, quanto mais ar estiver dissolvido no líquido (suco), maior a estabilidade do flotado, mantendo-se em suspensão.

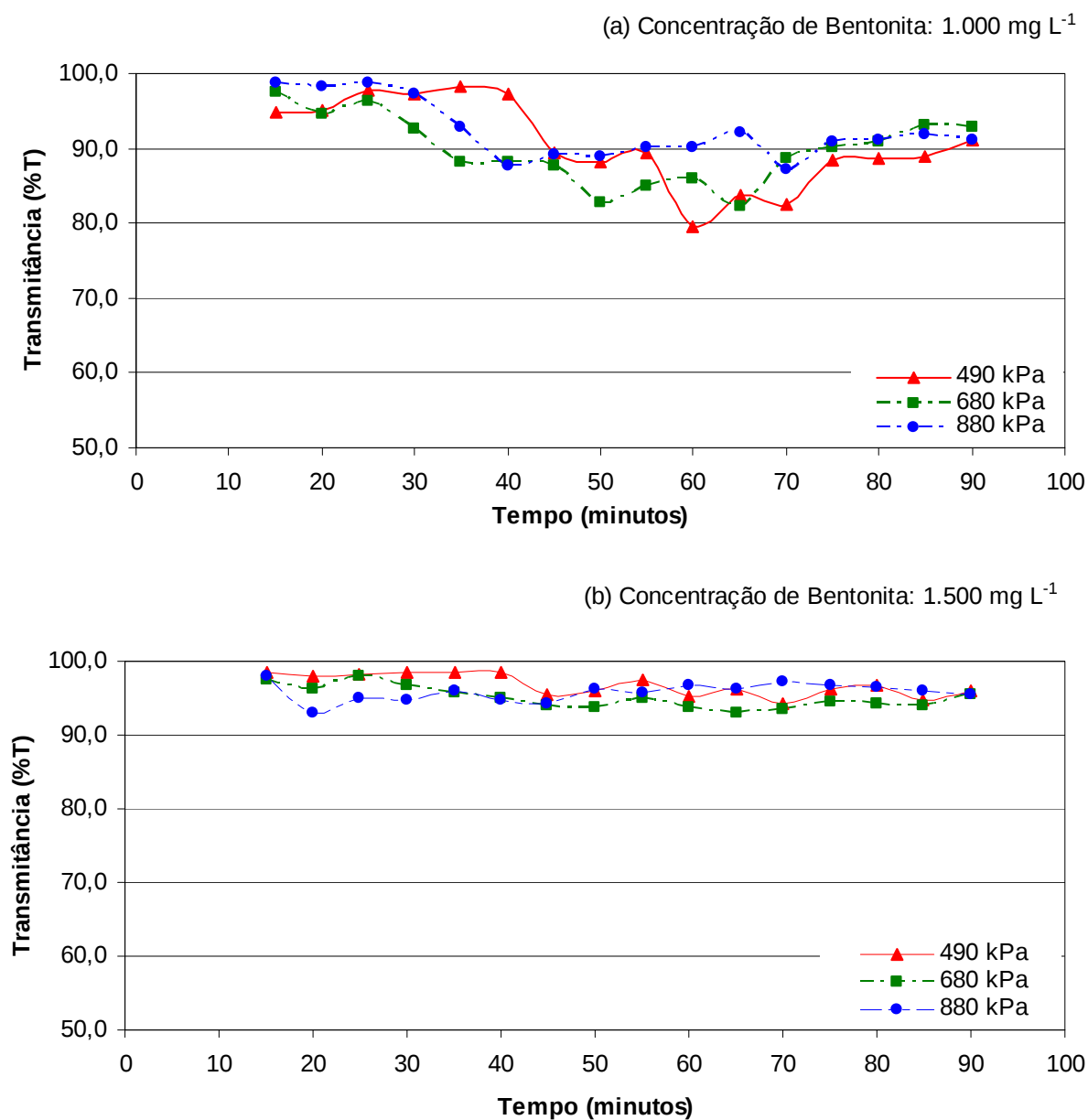


FIGURA 29 - Resultados de transmitância em função do tempo de separação, para cada teor de bentonita dosado (a) Concentração de Bentonita: 1.000 mg L⁻¹ (b) Concentração de Bentonita: 1.500 mg L⁻¹
NOTA: Linhas contínuas foram traçadas somente para facilitar a leitura.

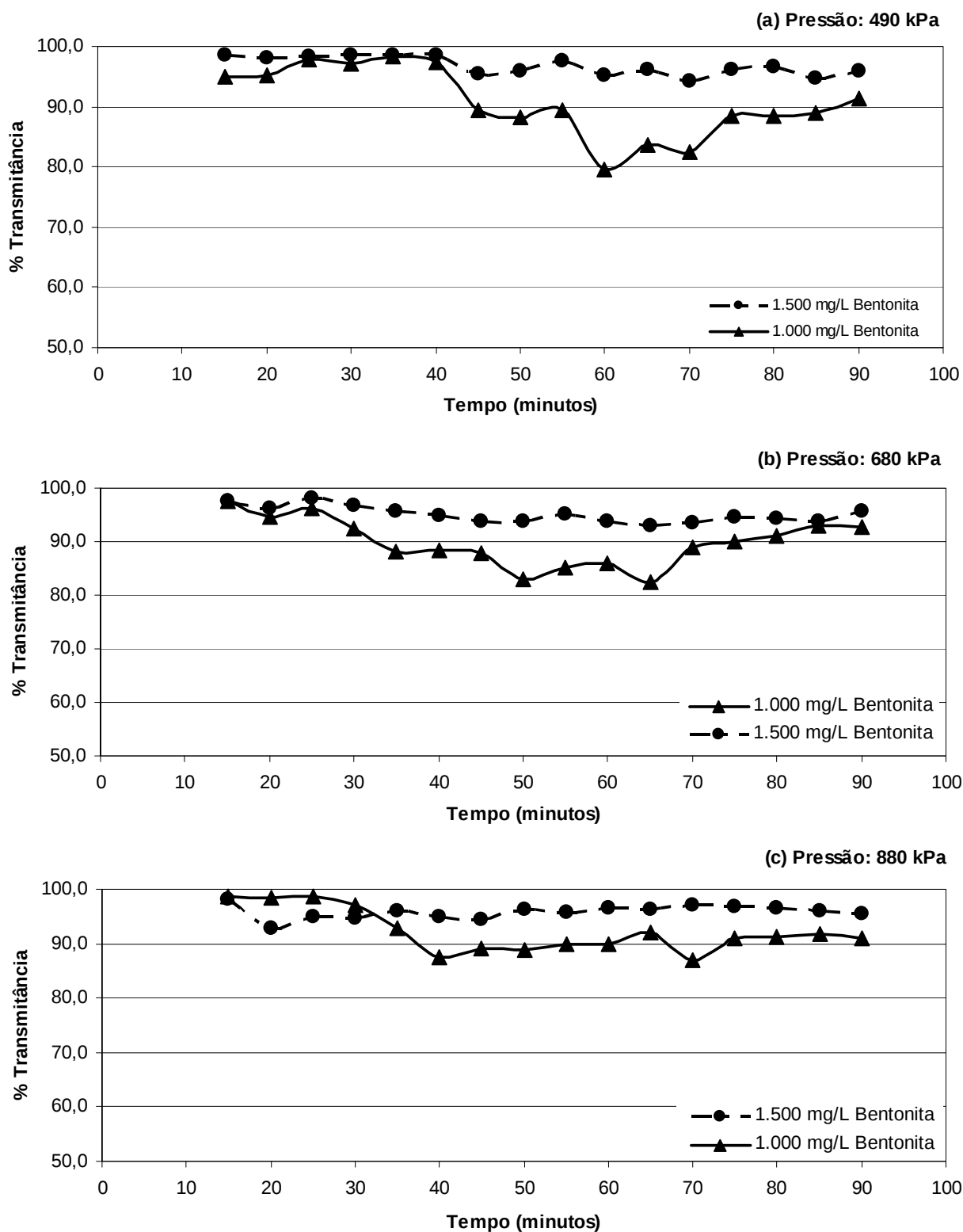


FIGURA 30 - Resultados de transmitância em função do tempo de separação, agrupados para cada pressão de flotação (a) 490 kPa (b) 680 kPa (c) 880 kPa

NOTA: Linhas contínuas foram traçadas somente para facilitar a leitura.

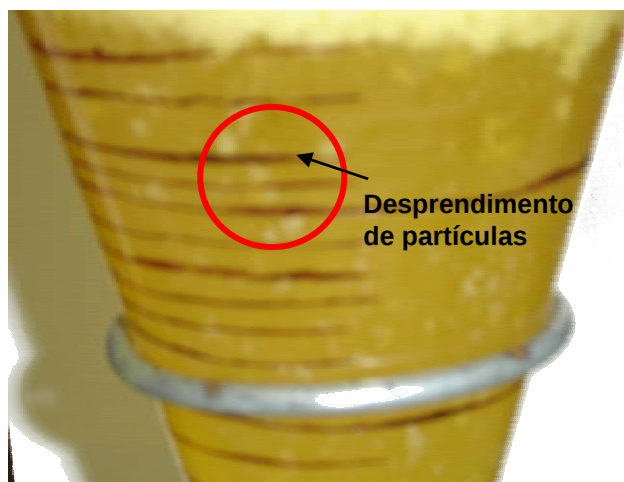


FIGURA 31 - Fotografia da flotação em andamento, com destaque para desprendimento de partículas

Estudos sobre a produção de bolhas, relatado por Takahashi; Miyahara; Mochizuki (1979) mostram que a energia mínima necessária, ΔF , a ser transferida para a fase líquida visando a formação de bolhas através do fenômeno de cavitação pode ser determinada pela expressão apresentada na Equação 4. Esta equação mostra que a energia a ser transferida às micro-bolhas é menor quando a tensão interfacial entre o ar/líquido é mais baixa e quando a diferença de pressão na fase líquida é maior com respeito a pressão atmosférica. Portanto, através da diminuição da tensão interfacial ar/líquido, o atrito interfacial será menor, consequentemente a velocidade de deslizamento será maior e a velocidade de formação das bolhas será maior.

$$\Delta F = \frac{\frac{16}{3} \pi \sigma^3}{(P_o - P_a)^3} \quad (4)$$

Onde:

σ = tensão superficial água/ar (N m^{-1})

P_a = pressão atmosférica (Pa)

P_o = pressão de saturação (Pa)

Analisando-se os valores de transmitância do clarificado ao final do processo de flotação/separação (com 1,5 horas), apresentados na Tabela 19, observa-se forte influência de concentrações mais elevadas de bentonita, que proporcionaram a obtenção de produtos mais clarificados e com maior transmitância.

A análise estatística mostrou diferenças significativas entre os valores de transmitância nas concentrações de 1.000 e 1.500 mg L-suco⁻¹ (significância de 5%, teste t). Pode-se aplicar a mesma análise nos efeitos de menores pressões sobre os volumes de sedimentado formados quando comparados com os tratamentos com os mesmos teores de bentonita (Figura 28), corroborando com a hipótese de que a menor quantidade de ar dissolvido no suco (em pressões menores), não é alcançada a energia mínima para formação de bolhas e o material que deveria ser flotado sedimenta.

TABELA 19 - Transmitância ao final do processo de flotação/separação (1,5 horas)

[Bentonita] (mg L ⁻¹)	Pressão (kPa)	Transmitância (% T)	Média
1.000	490	91,3	91,7 ± 0,9
	680	92,8	
	880	91,0	
1.500	490	96,0	95,7 ± 0,2
	680	95,6	
	880	95,6	

NOTA: Experimentos com 500 mg L⁻¹ de bentonita não proporcionaram separação entre clarificado e sedimentado.

Este fato também pode ser comprovado comparando-se as imagens dos experimentos 1 (490 kPa/500 mg L-suco⁻¹ de bentonita), 3 (490 kPa/1.500 mg L-suco⁻¹ de bentonita) e 9 (880 kPa/1.500 mg L-suco⁻¹ de bentonita) (Figura 27). Comparando-se o experimento 1 com o 3, verifica-se a nítida influência da bentonita na clarificação do produto. Quando se comparam as imagens dos experimentos 3 e 9, tratados com o mesmo teor de bentonita e com pressões diferentes, observa-se que não há diferença de clarificação entre os produtos obtidos. Neste caso, as diferenças verificadas são com relação ao material em suspensão e ao sedimentado formado, fato este ligado às diferenças de pressões aplicadas.

6.4.4 Análises físico-químicas do produto final clarificado

A Tabela 20 apresenta os resultados das análises físico-químicas do suco *core wash* e do produto final clarificado.

A polpa sedimentável no produto sem tratamento, suco *core wash*, apresentava-se 8,5% tendo diminuído para 0,0 (zero) em todas as amostras clarificadas

TABELA 20 - Resultados das análises físico-químicas do produto final clarificado

Experimento	Unidade	Suco não tratado	Experimento								
			1 **	2	3	4 **	5	6	7	8	9
Pressão	kPa	-	490	490	490	680	680	680	880	880	880
[Bentonita]	mg L ⁻¹	-	500	1.000	1.500	500	1.000	1.500	500	1.000	1.500
Sólidos Solúveis	°Brix	49,70	9,60	11,39 ± 0,71	11,45 ± 0,21	10,89	12,10 ± 0,43	11,00 ± 1,42	11,16 ± 0,48	11,01 ± 0,29	10,60 ± 0,16
Acidez	g 100 g ⁻¹	1,64	0,52	0,43 ± 0,04	0,47 ± 0,02	0,46	0,50 ± 0,04	0,48 ± 0,03	0,54 ± 0,06	0,52 ± 0,06	0,49 ± 0,06
pH	-	4,30	4,11	4,13 ± 0,01	4,12 ± 0,03	4,13	4,14 ± 0,02	4,13 ± 0,02	4,12 ± 0,01	4,15 ± 0,05	4,18 ± 0,01
Proteína	% m/m	1,93	-	-	-	1,49	-	1,39	-	-	-
Polpa Sedimentável	% v/v	8,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Sólidos Insolúveis Totais	% m/m	-	***	4,18	3,72 ± 0,07	5,18	4,34 ± 0,20	3,82 ± 0,07	***	***	***
Hesperidina	mg L ⁻¹	3580	4567	4048 ± 61	3949 ± 6	4090	3948 ± 135	4140 ± 213	4079 ± 33	4070 ± 35	4064 ± 3
Bioflavonóides	DO	3,87	4,57	4,12 ± 0,01	4,24 ± 0,05	4,32	4,18 ± 0,10	4,26 ± 0,28	4,22 ± 0,07	4,17 ± 0,03	4,19 ± 0,02
Polifenóis	DO	2,36	2,93	2,61 ± 0,00	2,63 ± 0,01	2,74	2,62 ± 0,03	2,68 ± 0,20	2,72 ± 0,01	2,65 ± 0,07	2,65 ± 0,01
Sódio	mg L ⁻¹	4,2	62,6	70,5 ± 0,8	91,3 ± 6,1	52,8	77,3 ± 13,8	91,9 ± 3,5	36,3 ± 4,1	64,2 ± 10,4	95,4 ± 1,9
Transmitância	% T	-	54,4	84,9 ± 8,7	94,4 ± 0,6	87,5	90,2 ± 4,0	93,6 ± 2,3	81,6 ± 0,3	92,2 ± 3,5	92,7 ± 5,9
L*	-	-	95,80	95,72 ± 0,43	95,97 ± 1,46	93,97	95,51 ± 1,61	96,92 ± 0,60	96,24 ± 1,09	96,51 ± 3,27	96,95 ± 0,34
a*	-	-	-0,52	-1,12 ± 1,32	-1,57 ± 1,08	-0,56	-0,74 ± 2,09	-1,12 ± 1,28	-0,70 ± 0,65	-1,36 ± 0,46	-1,66 ± 0,79
b*	-	-	86,06	81,88 ± 3,19	82,66 ± 3,69	84,22	84,74 ± 2,39	82,4 ± 3,23	82,81 ± 0,01	84,47 ± 0,04	83,24 ± 1,18

NOTA: ** Experimento sem duplicata. Não separação das fases ou mistura das fases no momento da coleta. *** Amostras indisponíveis.

(Tabela 20), comprovando a eficiência do processo de clarificação com agentes clarificantes auxiliados por processo de flotação por ar dissolvido. Com relação ao pH, pode-se afirmar que este sofreu pequena variação de 4% na média.

A Tabela 21 apresenta a redução dos teores de sólidos solúveis, acidez e pH em relação ao produto não tratado. Para os três parâmetros analisados, de modo geral não foram encontradas evidências, ao nível de 5% de significância (calculadas no teste-t), de que as médias diferem entre si. Contudo, exceção deve ser destacada, foi encontrada diferença significativa ao nível de 5%, quando comparado o teor de sólidos solúveis dos experimentos 3 e 9 (valor $p < 0,05$).

TABELA 21 - Resultado da redução do teor de sólidos solúveis, acidez e pH em relação ao produto não tratado

Experimento	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Pressão (kPa)	490	490	490	680	680	680	880	880	880
[Bentonita] (mg L ⁻¹)	500	1.000	1.500	500	1.000	1.500	500	1.000	1.500
% Redução Sólidos Solúveis	20,00	5,13	4,63	9,25	-0,79	8,38	7,00	8,29	11,67
% Redução Teor de Acidez	68,29	73,78	71,65	71,95	69,82	70,73	67,07	68,29	70,12
% Redução pH	4,42	3,95	4,19	3,95	3,84	4,07	4,19	3,60	2,91

Os resultados dos teores de sólidos solúveis demonstram uma redução que variou de 0 a 20%, com 8,25% de redução média. A diminuição no teor de sólidos solúveis era esperada considerando que parte dos açúcares fica agregada às partículas flotadas e sedimentadas; contudo apesar de ser pequena, deve ser considerada no balanço de sólidos e no rendimento do sistema. Além disso, ácidos orgânicos também contribuem para o teor de sólidos solúveis; e, como pode ser observado, a acidez das amostras clarificadas sofreu redução média de 70,19%, com considerável participação portanto na diminuição do teor de sólidos solúveis, tendo em vista que o suco antes do tratamento apresentava 1,64 g de ácido cítrico 100 g⁻¹. A acidez presente no suco fornece a característica ácida e de adstringência do produto, sendo portanto desejável essa redução, uma vez que a intenção desse produto clarificado é ser aplicado na formulação de refrescos e bebidas prontas para consumo, repositores eletrolíticos, refrigerantes carbonatados ou como insumo nas indústrias de sorvetes e bebidas lácteas e, para estas aplicações, normalmente produtos com teores de acidez elevados não são desejados.

Provavelmente parte dessa diminuição da acidez seja devido à retirada da polpa do produto durante o processo de flotação. Ao ser retirado, este material carrega consigo

ácido cítrico presente na amostra, alterando a acidez do produto. Gierschner (1970) citado por Lea, (1995) constatou reduções progressivas de ácido málico em suco de maçã concentrado, o ácido orgânico em maior proporção nessa fruta, durante o tempo de estocagem; atingindo reduções superiores a 20%. Este autor atribuiu este fato a esterificação do ácido pelos açúcares. As análises laboratoriais no clarificado, inclusive de acidez, foram realizadas após 20 dias de estocagem a temperatura de 10°C. Assim como ocorre com o suco de maçã, reações de combinação do ácido cítrico com componentes presentes na amostra podem ter ocorrido durante a estocagem que justifique essa queda de acidez. Nesse sentido, análises químicas específicas se fazem necessárias para confirmar o observado.

As amostras do clarificado foram também analisadas com relação ao teor de sólidos insolúveis totais, com os valores obtidos apresentados na Figura 32. Estes resultados mostram uma tendência de redução dos sólidos insolúveis totais no produto clarificado quando maiores teores de bentonita são utilizados, provavelmente porque maiores teores de bentonita devem arrastar mais partículas sólidas suspensas, deixando o produto clarificado com menos resíduos sólidos. Outro ponto que deve ser considerado é a contribuição da bentonita em concentrações crescentes, como auxiliar de clarificação facilitando a flotação e a subsequente separação das fases, com a formação de um floculado mais estável. Com a facilitação da separação, menor arraste do floculado com o clarificado foi observado no momento da coleta do clarificado, contribuindo para a obtenção de menores resíduos sólidos no produto final clarificado.

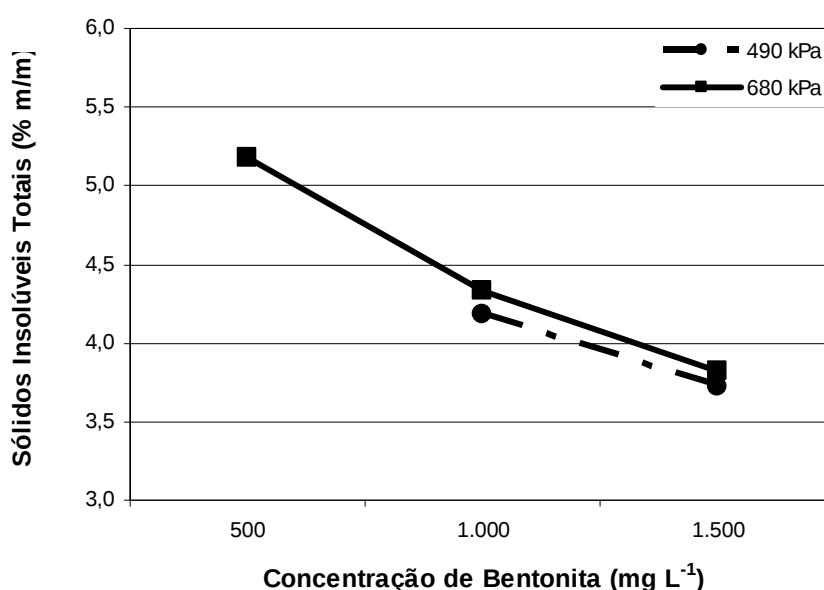


FIGURA 32 - Resultados dos sólidos insolúveis totais no produto final clarificado

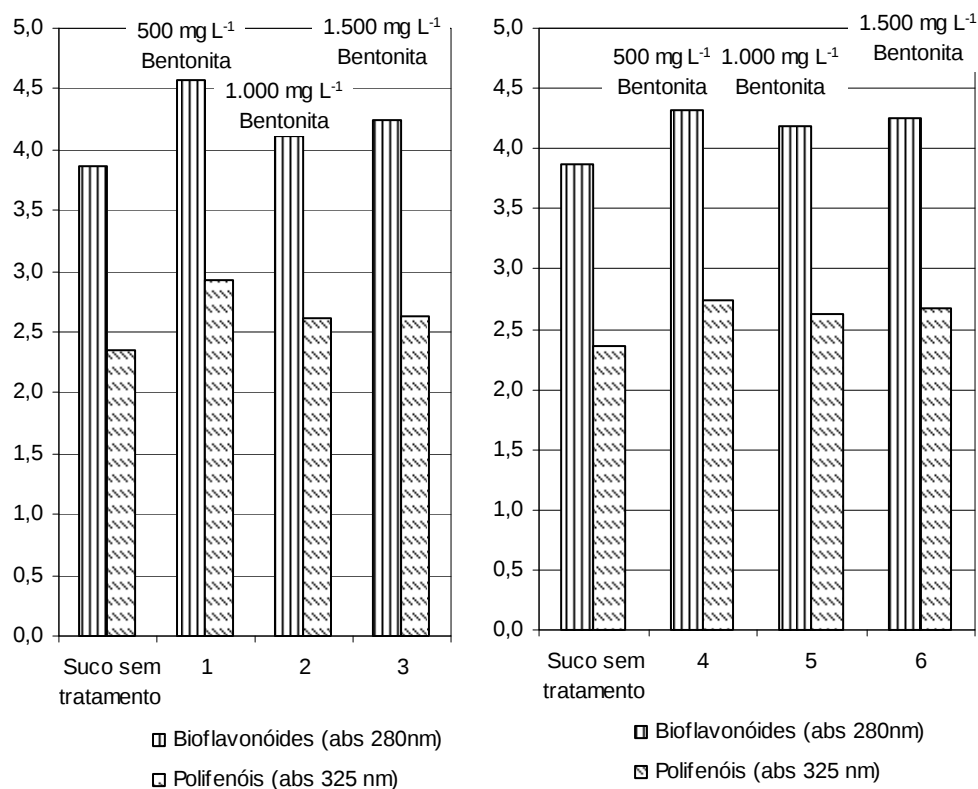
NOTA: Linhas contínuas traçadas somente para facilitar a leitura.

Analisando-se o efeito da pressão na flotação, pode-se observar um leve aumento dos sólidos insolúveis totais com o aumento da pressão. Para 1.000 mg L-suco⁻¹ de bentonita, o teor dos sólidos insolúveis totais passou de 4,18 para 4,34% (m/m); respectivamente à 490 kPa e 680 kPa, e quando tratadas com 1.500 mg L-suco⁻¹ de bentonita, o teor dos sólidos insolúveis totais passou de 3,72 para 3,82 % (m/m); respectivamente à 490 e 680 kPa.

Os resultados para a proteína (Tabela 20) do produto clarificado apresentaram redução em torno de 25% no processo de flotação, confirmando que o colágeno hidrolisado forma complexos com os polifenóis existentes no suco, os quais por sua vez, interagem com as proteínas naturais do produto. Assim, com o auxílio dos demais agentes clarificantes, sílica sol e bentonita e do ar comprimido dissolvido, esses materiais se aglomeram e colidem em flocos que são arrastados por flotação.

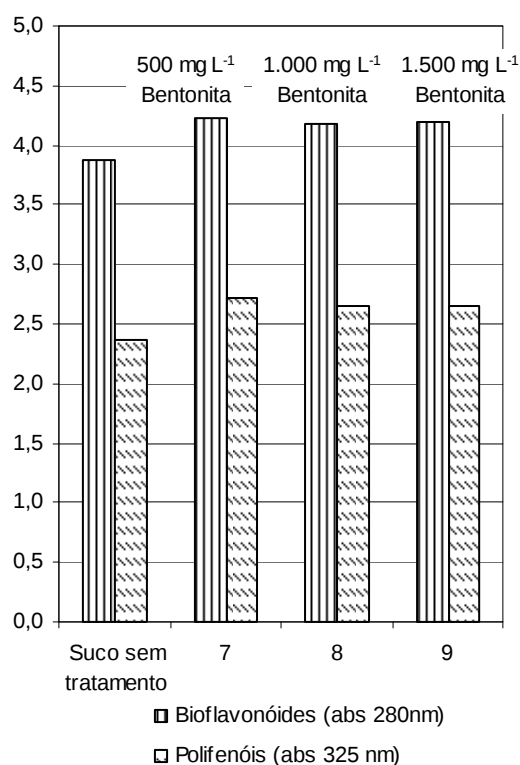
Os valores obtidos para os teores de bioflavonóides, polifenóis e hesperidina, plotados em função das condições de flotação são apresentados nas Figuras 33 e 34. Da análise dos resultados, observa-se, de modo geral, um aumento médio de 14, 10 e 14%, respectivamente, nos teores de polifenóis, bioflavonóides e hesperidina, contrastando com informações existentes na literatura (Tabela 22) (LEA, 1995; VARNAN; SUTHERLAND, 1994). Estes autores afirmam que a clarificação de suco de maçã com o uso de gelatina contribuiria para a redução dos níveis dos precursores solúveis que causam a turbidez, principalmente os polifenóis. Para os três parâmetros analisados, de modo geral não foram encontradas diferenças significativas ao nível de significância de 5%, através do teste-t. Foram encontradas diferenças significativas (ao nível de 5%, teste-t), para o teor de hesperidina para os experimentos 3 e 9 (valor $p < 0,05$) e para o teor de polifenóis para os experimentos 2 e 7 (valor $p < 0,05$). Esses resultados indicam que o tratamento com agentes clarificantes (colágeno hidrolisado, bentonita e sílica sol) e separação por flotação não contribuiu para a redução dos teores de bioflavonóides, polifenóis e hesperidina e que, portanto, caso seja desejável a remoção destes compostos no produto clarificado deverá ser submetido a um tratamento com resinas de troca iônica.

Com relação aos resultados dos teores de sódio, diferenças significativas foram encontradas, ao nível de significância de 5% (teste-t) entre as médias; quando comparados os experimentos 2 e 9, (valor $p < 0,05$); 3 e 7 (valor $p < 0,05$) e 6 e 7 (valor $p < 0,05$). Os teores de sódio obtidos nos produtos clarificados finais são cerca de 9 a 23 vezes superiores ao teor do produto sem tratamento (4,2 mg L⁻¹). Analisando a Figura 35, observa-se que os teores de sódio no clarificado aumentam significativamente com o aumento na



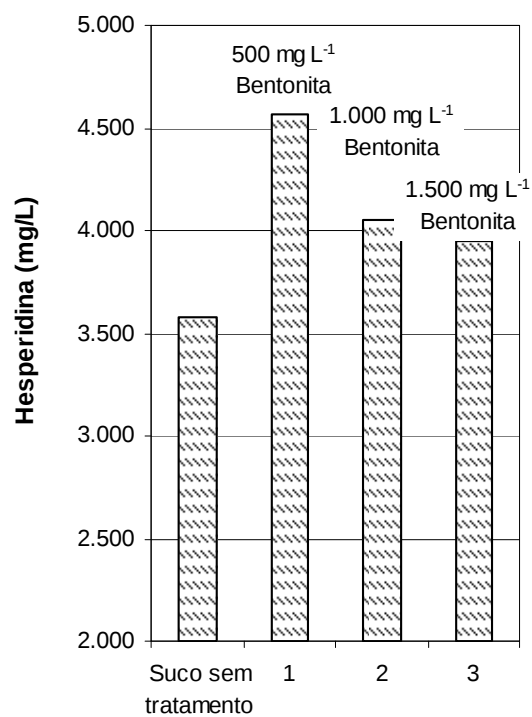
(a) Pressão: 490 kPa

(b) Pressão: 680 kPa

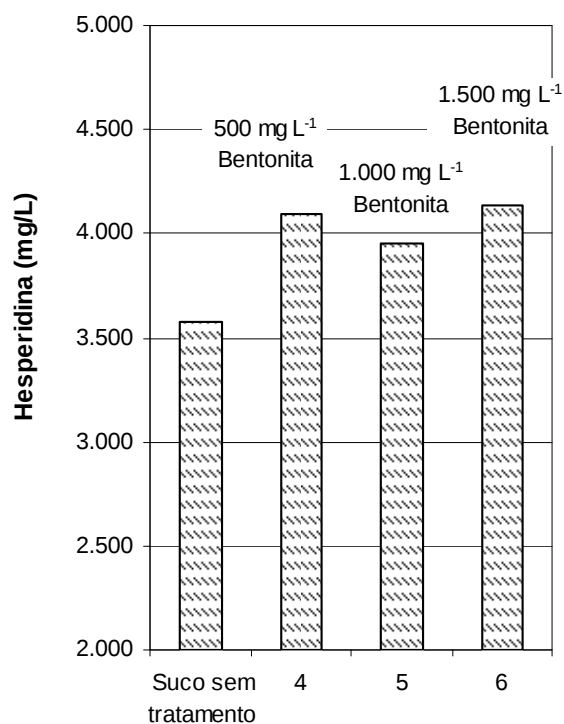


(c) Pressão: 880 kPa

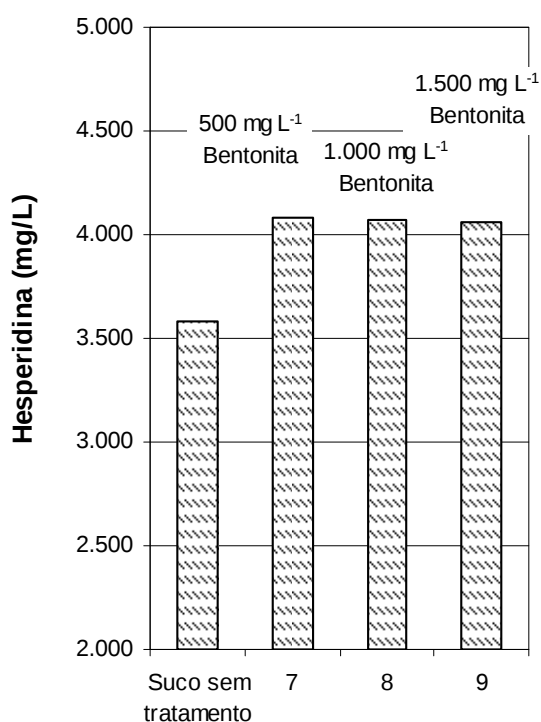
FIGURA 33 – Teores de bioflavonóides e polifenóis obtidos no produto final clarificado, em função das condições de flotação (a) Pressão: 490 kPa (b) Pressão: 680 kPa (c) Pressão: 880 kPa



(a) Pressão: 490 kPa



(b) Pressão: 680 kPa



(c) Pressão: 880 kPa

FIGURA 34 – Teores de hesperidina no produto final clarificado, em função das condições de flotação (a) Pressão: 490 kPa (b) Pressão: 680 kPa (c) Pressão: 880 kPa

dosagem de bentonita. Teores elevados de sódio no produto final clarificado podem ser um problema e uma barreira para o posterior comércio desse produto devido a restrições nos limites aceitáveis na legislação de diversos países e considerando a procura por produtos mais saudáveis e com um menor teor de sódio.

TABELA 22 - Aumento dos teores de hesperidina, bioflavonóides e polifenóis quando comparados com o suco sem tratamento

Experimento	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Média
Pressão (kPa)	490	490	490	680	680	680	880	880	880	-
[Bentonita] (mg L ⁻¹)	500	1.000	1.500	500	1.000	1.500	500	1.000	1.500	-
Aumento do teor de hesperidina	28%	10%	9%	13%	10%	16%	14%	14%	14%	14%
Aumento do teor de bioflavonóides	18%	6%	10%	12%	8%	10%	9%	8%	8%	10%
Aumento do teor de polifenóis	24%	11%	11%	16%	11%	14%	15%	12%	12%	14%

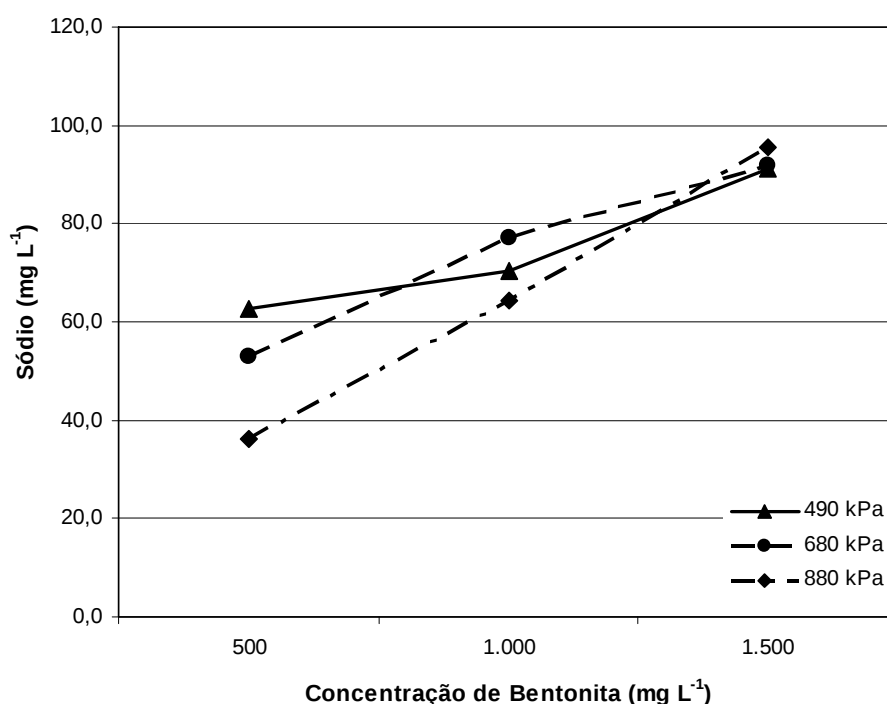


FIGURA 35 - Resultados para o teor de sódio no produto final clarificado

NOTA: Linhas contínuas traçadas somente para facilitar a leitura.

Com o objetivo de verificar quais os principais agentes empregados no processo que contribuem para o elevado teor de sódio no produto clarificado, foram analisadas todas as soluções adicionadas durante o tratamento: enzima Pectinex YieldMASH, sílica sol, colágeno hidrolisado e bentonita; com os resultados apresentados na Tabela 23.

Pode-se observar que a solução de enzima Pectinex YieldMASH é a que possui a maior concentração de sódio, seguida pela solução de bentonita. Todavia, a dosagem da solução de bentonita nos experimentos foi 10 a 30 vezes superior que a da solução da enzima, sugerindo que a solução de bentonita seja a maior responsável pelo elevado teor de sódio no produto final clarificado. Com base nos teores de sódio das soluções utilizadas na clarificação foi possível calcular as quantidades de sódio dissolvidas no suco clarificado, conforme apresentado na Tabela 24.

TABELA 23 - Teor de sódio nas soluções adicionadas no tratamento

Soluções	Teor de Sódio (mg L^{-1})
Enzima Pectinex YieldMASH a 1% (v/v)	2.569,0
Sílica Sol a 1% (v/v)	130,0
Colágeno Hidrolisado a 1% (m/v)	94,2
Bentonita a 5% (m/v)	993,5

TABELA 24 – Valores calculados teóricos para o sódio no produto final clarificado

Experimento	1	2	3	4	5	6	7	8	9
[Bentonita] (mg L^{-1})	500	1.000	1.500	500	1.000	1.500	500	1.000	1.500
Pressão (kPa)	490	490	490	680	680	680	880	880	880
Concentração Medida de Na^+ no Clarificado Final (mg L^{-1})	62,6	70,5	91,3	52,8	77,3	91,9	36,3	64,2	95,4
Teor Na^+ Total Teórico Esperado na Amostra Clarificada (mg)	19,6	29,5	39,5	19,6	29,5	39,5	19,6	29,5	39,5
Teor Na^+ Total Experimental na Amostra Clarificada (mg)*	7,8	16,2	25,2	17,3	24,6	30,1	11,6	25,4	36,5
(Na^+ experimental/Na^+ teórico amostra clarificada)$\times 100$ (%)	39,9	54,8	63,9	88,1	83,4	76,3	59,4	86,2	92,6

O cálculo do teor de sódio total teórico esperado na amostra clarificada foi realizado com base nas quantidades individuais adicionadas por cada um dos agentes clarificantes, em função do teor de sódio existente na solução e das quantidades adicionadas, somada a quantidade inicial existente no suco *core wash*. O teor de sódio total experimental na amostra clarificada foi calculado com base na concentração medida de sódio e nos volumes reais de cada um dos tratamentos. Pode-se observar que o teor de sódio no clarificado está relacionado com a dosagem dos agentes clarificantes adicionados e o teor de sódios destes, e

também com a capacidade de solubilização desse sal no clarificado, uma vez que o percentual de sódio dissolvido na amostra clarificada variou conforme o tratamento.

A solubilidade de sais em água pode ser definida pela quantidade máxima de soluto que consegue dissolver em água de modo a obter uma solução saturada, a uma dada temperatura, sendo influenciada por (LEVINE,1995):

- Concentração: solubilidade decresce com o aumento da concentração do íon comum
- Temperatura: quando a dissolução for um processo endotérmico, a solubilidade aumenta com o aumento da temperatura; e para a dissolução exotérmica, a solubilidade diminui com o aumento da temperatura.
- Pressão: quando a dissolução for um processo endotérmico, a solubilidade aumenta com o aumento da pressão; e para a dissolução exotérmica, a solubilidade diminui com o aumento da pressão.

A influência da temperatura no teor de sódio pode ser descartada, tendo em vista que todos os experimentos foram conduzidos à mesma temperatura. Com relação ao efeito do íon comum, o suco inicial a ser tratado era proveniente do mesmo lote, e, portanto sem variação de concentração de sódio no suco antes do tratamento para todos os experimentos. Quanto à pressão, essa variável pode ter tido um efeito na dissolução de sódio no clarificado. Analisando-se os gráficos apresentados na Figura 36, pode-se observar que existe aumento no percentual de sódio dissolvido na amostra clarificada quando se aumenta a pressão de flotação, comparando-se os experimentos tratados com o mesmo teor de bentonita. Esse resultado sinaliza a necessidade de estudos do processo de flotação empregando outros tipos de bentonita e/ou modificações na sua dosagem. Existem no mercado várias formas de bentonitas; tais como as sódicas e as cálcicas; sendo ambas utilizadas para clarificação de sucos de frutas embora a bentonita sódica possua maior habilidade de se ligar às proteínas em relação à cálcica. Segundo Lea (1995), a bentonita sódica é normalmente a preferida para aplicações em clarificação de suco de maçã em função do seu grande poder de turgescência.

Quanto a eficiência do tratamento no que se refere a clarificação da amostra, valores de até 94,4% de transmitância foram alcançados (Tabela 20). Analisando os resultados observa-se que os mesmos confirmam os resultados obtidos no experimento do grau de clarificação, discutido no item 6.4.3. Comparando-se os resultados obtidos em função da pressão aplicada na flotação, observa-se queda da transmitância à medida que os teores de bentonita diminuem, comprovando a forte influência da bentonita no processo de clarificação. Os experimentos realizados com 490 kPa de pressão apresentaram diferenças na transmitância de forma mais significativa com os diferentes teores de bentonita, do que as diferenças

encontradas nos tratamentos com 680 e 880 kPa. A pressões baixas, energia não é fornecida em quantidade suficiente para produção de bolhas, justificando as baixas transmitâncias encontradas nos experimentos com 490 kPa e as diferenças significativas em função da bentonita.

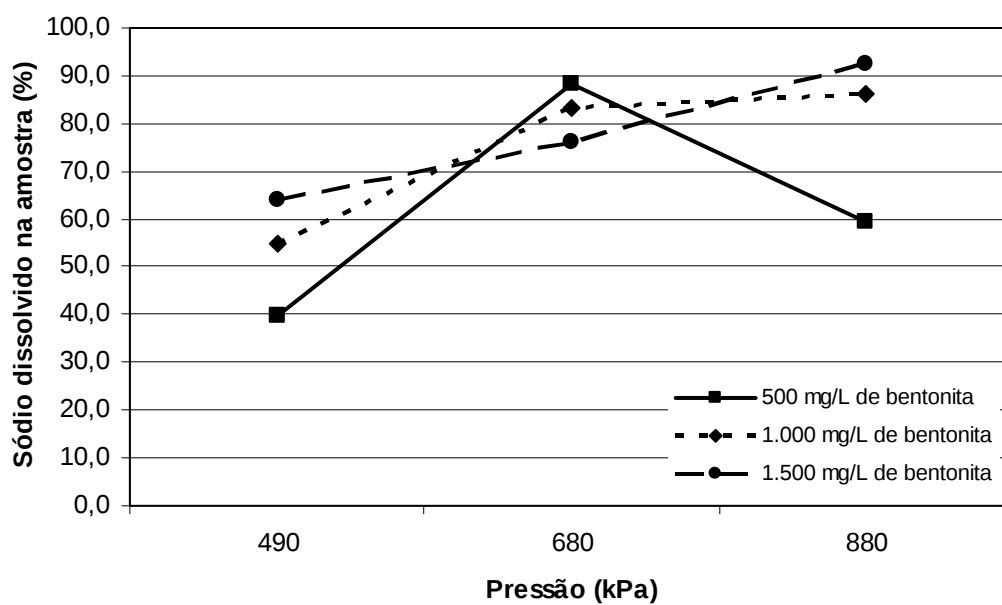


FIGURA 36 - Sódio dissolvido no produto final clarificado em função do teor de bentonita dosado e pressão de flotação

NOTA: Linhas contínuas traçadas somente para facilitar a leitura.

Para a análise de cor do clarificado (Tabela 20), não foram encontradas evidências (nível de significância de 5%, teste-t), de que as médias diferem entre os tratamentos aplicados, exceção foi encontrada quando comparados o parâmetro b^* dos experimentos 7 e 8 (valor $p < 0,05$). A Figura 37 apresenta as imagens obtidas dos produtos clarificados finais dos experimentos realizados. Analisando os resultados obtidos para o L^* , que consiste no componente que expressa a claridade da amostra (quanto mais próximo de 100, maior a claridade), foram encontrados valores em torno de 95, significando que o produto final obtido se apresentava bem clarificado, comprovando a eficiência do processo por flotação com o uso de agentes clarificantes. Com relação ao parâmetro a^* , que varia da tonalidade verde a vermelha, os resultados se apresentaram próximos de 0 (zero), indicando que as amostras clarificadas não apresentam contribuições das tonalidades verde e vermelha, conforme esperado. Os valores do parâmetro b^* se apresentaram extremamente altos, comprovando a prevalência da tonalidade amarela na amostra.

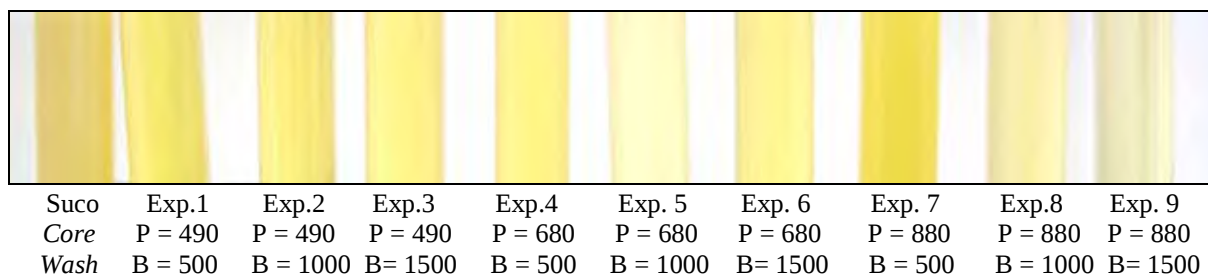


FIGURA 37 – Imagens do suco não tratado diluído a 12º Brix e dos produtos finais clarificados obtidos

NOTA: P = pressão em kPa. B = concentração de bentonita em mg L-suco⁻¹.

Foram calculados os valores dos parâmetros ΔE , a partir dos valores de L^* , a^* e b^* obtidos experimentalmente (Tabela 25). Este parâmetro exprime em um único as diferenças de cor em relação aos valores obtidos para o suco não-tratado; definido pela Equação 5. Não foram encontradas diferenças significativas ao nível de 5% (teste t) entre as médias para o parâmetro ΔE entre os tratamentos, indicando que os mesmos proporcionaram produtos clarificados similares quanto a coloração.

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2} \quad (5)$$

Onde:

$$\Delta L = L^*_{\text{amostra}} - L^*_{\text{suco não tratado}}$$

$$\Delta a = a^*_{\text{amostra}} - a^*_{\text{suco não tratado}}$$

$$\Delta b = b^*_{\text{amostra}} - b^*_{\text{suco não tratado}}$$

TABELA 25 - Resultados para ΔE no produto final clarificado

Experimento	[Bentonita] (mg L ⁻¹)	Pressão (kPa)	ΔE
1*	500	490	10,79
2	1.000	490	9,26 ± 0,30
3	1.500	490	9,99 ± 0,94
4*	500	680	10,33
5	1.000	680	10,36 ± 0,60
6	1.500	680	10,49 ± 0,72
7	500	880	9,36 ± 0,72
8	1.000	880	10,70 ± 2,28
9	1.500	880	10,49 ± 0,71

Nota: * Experimento sem duplicata devido a não separação das fases.

7 CONCLUSÕES

As principais conclusões deste estudo com relação aos objetivos propostos foram:

- (i) Foram obtidos sucos clarificados com elevada transmitância, acima de 92%, e claridade (expressa pelo parâmetro de cor L*), acima de 96, para os experimentos conduzidos com 1.500 mg L-suco⁻¹ de bentonita para todas as pressões aplicadas.
- (ii) A enzima Pectinex YieldMASH, uma hidrolase do tipo poligalacturonase, purificada, permitiu a hidrólise da pectina em uma hora de tratamento a 45°C e dosagem de 0,05 mL L-suco⁻¹.
- (iii) A melhor dosagem obtida para os agentes clarificantes foi de 0,15 mL L-suco⁻¹ de sílica sol e 100 mg L-suco⁻¹ de colágeno hidrolisado.
- (iv) Foi possível verificar influência dos teores de bentonita e das pressões utilizadas sobre a cinética de formação do clarificado, obtendo-se para a velocidade inicial valores entre 6,92 e 11,78 mL min⁻¹. Os maiores valores foram obtidos para as maiores pressões e maiores concentrações de bentonita.
- (v) O máximo de recuperação de suco clarificado foi 38%, obtido na pressão de 880 kPa e 1.000 mg L-suco⁻¹ de bentonita.
- (vi) Maiores teores de bentonita mantém a transmitância mais estável, para todos os níveis de pressão aplicada, durante todo o processo de flotação; proporcionando uma maior estabilidade do flotado formado e menor desprendimento de partículas por sedimentação. Observou-se forte influência das concentrações mais elevadas de bentonita proporcionando a obtenção de produtos mais clarificados com transmitância média de 95,7% para 1.500 mg L-suco⁻¹ de bentonita, e de 91,7% para 1.000 mg L-suco⁻¹ de bentonita.
- (vii) Os sucos clarificados obtidos apresentaram-se totalmente isentos de polpa. Maiores teores de bentonita arrastam mais partículas sólidas suspensas proporcionando um produto clarificado com menos resíduos sólidos. Verificou-se ligeiro aumento nos teores de polifenóis, bioflavonóides e hesperidina em relação ao suco não tratado. O teor de sódio no clarificado aumentou significativamente com o aumento na dosagem de bentonita. O teor de sódio dissolvido no clarificado aumentou com o aumento de pressão empregada. Os tratamentos não influenciaram significativamente na coloração.

8 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Estudar formas de recuperação dos sólidos solúveis que ainda ficam agregados às partículas flotadas, com o propósito de aumentar o rendimento do processo de flotação/separação.
- Investigar a influência da sílica sol, colágeno hidrolisado e bentonita no aumento do teor de polifenóis, hesperidina e bioflavonóides no produto clarificado.
- Investigar a influência de diferentes tipos de bentonita (bentonita cálcica e sódica) e concentrações no teor de sódio no produto final clarificado e a influência da pressão na saturação de sais no produto clarificado.
- Aprofundar o estudo da influência da pressão na cinética da flotação/separação visando a obtenção de parâmetros cinéticos mais generalizados (energia de ativação) relacionados a energia mínima necessária para a flotação.
- Investigar o processo de flotação sob o ponto de vista do flotado (constituição e propriedades físico-químicas) e sua relação com as condições do processo e produto clarificado obtido.
- Investigar o uso de outros agentes clarificantes e agentes tensoativos como auxiliar no processo de clarificação por flotação com ar dissolvido.
- Investigar o uso de gases inertes como o nitrogênio no processo de flotação.

9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALKORTA, I. et al. Industrial applications of pectic enzymes: a review. **Process Biochemistry**, London, v. 33, n.1, p. 21-28, 1998.

AMERINE, M. A.; BERG, H. W.; CRUSES, W. V. **The technology of wine making**. Westport: AVI, 1976.

ARAÚJO, B. C. **Previsão e filtragem de dados da produção de petróleo em estações coletoras**. 2007. Trabalho de Conclusão de Curso (Ciências da Computação) – Centro de Engenharia Elétrica e Informática, Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2007.

ARAYA-FARIAS, M. et al. Clarification of apple juice by electroflotation. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, Amsterdam, v. 9, n. 3, p. 320-327, 2008.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS EXPORTADORES DE CITRUS. **Exportações brasileiras de suco concentrado de laranja**. Ribeirão Preto, 2008. Disponível em: <<http://www.abecitrus.com.br>>. Acesso em: 24 mar. 2008.

BASTOS, M. S. R. et al. Efeito da aplicação de enzimas pectinolíticas no rendimento da extração de polpa de cupuaçu. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 24, n. 1, p. 240-242, abr. 2002.

BEVERIDGE, T.; FRANZ, K.; HARRINSON, J. E. Clarified natural apple juice: production and storage stability of juice and concentrate. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 51, n. 2, p. 411-414, 1986.

BORGES, C. P. **Curso teórico – prático em engenharia de bioprocessos**. Rio de Janeiro: Centro Argentino-Brasileiro de Biotecnologia, 1998.

BRADDOCK, R. J. **Handbook of citrus by-products and processing technology**. New York: Wiley-Interscience, 1999.

BRASIL. Secretaria de Comércio Exterior. **Indicadores e Estatísticas de Comércio Exterior**. Brasília, 2009. Disponível em <<http://www2.desenvolvimento.gov.br/sitio/secex/secex/competencia.php>> Acesso em: 4 mar. 2009.

BRASIL, I. M.; MAIA, G. A.; FIGUEIREDO, R. W. Produção de suco clarificado de goiaba com uso de enzima pectinolítica e agentes “fining”. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 30, n. 6, p. 855-866, jun. 1995.

CANTO, W. L. Produção, usos e mercado de enzimas. **Estudos econômicos: alimentos processados**, Campinas, n. 29, p. 1-74, 1995.

CHAN, W. Y.; CHIANG, B. H. Production of clear guava nectar. **International Journal of Food Science e Technology**, Oxford, v. 27, n. 4, p. 435-441, 1992.

CHANG, T. S. et al. Processing of banana-based wine product using pectinase and α -amilase. **Journal of Food Process Engineering**, Westport, v. 31, n. 1, p. 78-90, 1994.

CHEIRSILP, B.; UMSAKUL, K. Plum juice quality affected by enzyme treatment and fining. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 59, n. 5, p. 1065-1069, 1994.

COLE, C. G. B. The use of gelatine in wine fining. In: SAAFoST TECHINCAL SYMPOSIUM, EMULSIFIERS, STABILISERS and THICKENERS IN THE FOOD INDUSTRY, 1.,1986, Durban. **Anais...**Durban: Natal Technikon,1986. Disponível em:<<http://www.gelatin.co.za/fining.htm>>. Acesso em: 21 abr. 2009.

DANESI, E. et al. Avaliação da influência da casca no processamento de sucos clarificados de maçãs fuji e gala. **Acta Scientiarum: technology**, Maringá, v. 29, n. 1, p. 91-97, 2007.

DARROS-BARBOSA, R. Processamento industrial da laranja. In: KOLLER, O. C. (Org.) **Citricultura: 1. laranja: tecnologia de produção, pós-colheita, industrialização e comercialização**. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2006. p. 333-396.

DAVIS, W. B. Determination of flavanones in citrus fruits. **Analytical Chemistry**, Washington, v. 19, n. 7, p. 476-478, 1947.

EDZWALD, J. K. Principles and applications of dissolved air flotation. **Water Science and Technology**, Oxford, v. 31, n. 3/4, p. 1-23, 1995.

FÉRIS, L. A.; RUBIO, J. Dissolved air flotation (DAF) performance at low saturation pressures. **Filtration and Separation**, Croydon, v. 36, n. 9, p. 61-65, nov. 1999.

FERRARINI, R.; CELOTTI, E.; ZIRONI, R. New processes for production of limpid apple juice. **Fruit Processing**, Schonborn, v. 5, p. 171-179, 1997.

FERRARINI, R. et al. Recents advances in the process of flotation applied to the clarification of grape musts. **Journal of Wine Research**, London, v. 6, n. 1, p. 19-33,1995.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **FAOSTAT statistics database online**, Rome, 2009. Disponível em: <<http://www.fao.org>>. Acesso em: 21 jan. 2009.

GELITA. **Gelatine**. Ederbach, 2009. Disponível em: <<http://www.gelita.com>>. Acesso em: 5 mai. 2009.

GIERSCHNER, K. Importance of the acids and their reaction during production concentration and storage of the fruit juices. **Flüssiges Obst**, Berlin, v. 46, n. 8, p. 292-298, 1979.

GIORDANO, G. Tratamento e controle de efluentes industriais. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 2004, São Paulo. **Anais...** São Paulo: Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental, 2004.

GRAMPP, E.; SCHMITH, R.; URLAB, R. Clarification of stone fruit. **Confructa Studien**, Schonborn, v. 28, p.513, 1989.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para alimentos**. São Paulo, 2008. Disponível em: <<http://www.ial.sp.gov.br>>. Acesso em: 15 dez. 2008.

INTERNATIONAL PECTIN PRODUCERS ASSOCIATION. **What is pectin?** New Century, 2008. Disponível em: <http://www.ippa.info/what_is_pectin.htm>. Acesso em: 4 abr. 2008.

JANDA, W.; DORREICH, K. **Novo método para obter um rendimento de suco em torno de 90%**. Basilea: Novo Ferment , 1989. (Informação técnica, v. 28).

JAYANI, R. S.; SAXENA, S.; GUPTA R. Microbial pectinolytic enzymes: a review. **Process Biochemistry**, London, v. 40, p. 2931-2944, 2005.

KAMENSKAYA, E. V. Differentiation and analysis of polyssacharides, proteins, and their complexes in fruit juices. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 8, p. 86–91, 1988.

KASHYAP, D. R. et al. Applications of pectinases in the commercial setor: a review. **Bioresource Technology**, Essex, v. 77, n. 3, p. 215-227, 2001.

KEAN, C. E.; MARSH, J. L. Investigation of copper complex causing cloudiness of wines II: bentonite treatment of wines. **Food Technology**, Chicago, v. 10, n. 8, p. 355–359, 1956.

KIMBALL, D. A. **Citrus processing**: a complete guide. 2nd. ed. Maryland: Aspen , 1999.

KIURU, H. J. Development of dissolved air flotation technology from the first generation to the newest (third) one (DAF in turbulent flow conditions). **Water Science and Technology**, Oxford, v. 43, n. 8, p. 1-7, 2001.

KLAVONS, J. A. et al. Physical/chemical nature of pectin associated with commercial orange juice cloud. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 59, n. 2, p. 399–401, 1994.

KOCH BRASIL. **Procedimentos analíticos para monitoramento da qualidade de sucos cítricos tratados pelo “citrus upgrading product”**. São Paulo, 1994.

LEA, A. G. H. **Apple juice**. In: ASHURST, P.R. (Ed.). Production and packaging of non-carbonated fruit juices and fruits beverages. 2nd. ed. Glasgow: Blackie Academic & Professional, 1995. p. 153–196.

LEA, A. G. H. **Enzymes in production of beverages and fruit juices**. In: TUCKER, G. A.; WOODS, L. F. J. (Org.). Enzymes in food processing. Glasgow: Blackie Academic & Professional, 1998. p. 223-249.

LEVINE, I. N. **Physical chemistry**. New York: Mc Graw Hill, 1995.

LIMA, I. C. **Otimização do sistema de tratamento de efluente de indústria de processamento de carnes e derivados**. 2008.Dissertação (Mestrado em Tecnologia Ambiental) - Universidade de Ribeirão Preto, Ribeirão Preto, 2008.

LUZURIAGA, D. A.; BALABAN, M. O.; YERALAN, S. Analysis of visual quality attributes of white shrimp by machine vision. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 62, n. 1, p. 113-118, 130, 1997.

METCALF; E., **Wastewater engineering: treatment, disposal and reuse**. 3th. ed. New York: McGraw-Hill, 1991.

MEYER, A. S.; KÖSER, C.; ADLER-NISSEN, J. Efficiency of enzymatic and other alternative clarification and fining treatments on turbidity and haze in cherry juice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 49, n. 8, p. 3644-3650, 2001.

MILNES, B. A., GILAD, A. Debbitering and upgrading citrus juice and by-products using combined technology. In: CITRUS PROCESSING SHORT COURSE , 35., 1995, Clearwater Beach. **Proceedings...** Clearwater Beach: Institute of Food Technologists, 1995.

NEUBECK, C. E. Pectic enzymes in fruit juice technology. **Journal of the Association of Official Agricultural Chemists**, Baltimore, v. 42, n. 2, p. 374–388, 1959.

OLIVEIRA, M.L. **Bentonita**: 2004. Disponível em <<http://www.dnpm.gov.br/assets/galeriadocumento/sumariomineral2004/BENTONITA%20004.pdf>>. Acesso em: 4 mar. 2008.

PALLET, D. et al. Aplicação da tecnologia de membranas no processamento de sucos de frutas brasileiras. **Cadernos de Ciência e Tecnologia**, Brasília, v. 22 n. 2, p. 427-437, 2005.

PARK, Y.K.; PAPINE, R.S. Produção de enzimas industriais e sua aplicação no processamento de alimento. **Boletim do Centro Tropical de Pesquisa e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 16, n. 16, p. 55–80, 1968.

PERRY, R. H.; CHILTON, C.H. **Manual de engenharia química**. 5th. ed. New York: Mc Graw Hill, 1980.

PILNIK, W.; VORANGE, A. G. J. Effect of enzymes treatment on the quality of processed fruit and vegetable. In: JEN, J. J.(Ed.). **Quality factors of fruits and vegetables**. Washington: American Chemical Society, 1989. p. 250–269.(ACS Symposium Series, v. 405).

PIRILLO, C. P.; SABIO, R. P. 100% suco: nem tudo é suco nas bebidas de frutas. **Hortifruti Brasil**, Piracicaba, v. 8, n. 81, p. 6–13, 2009.

POLYDERA, A. C.; STOFOROS, N. G.; TAOUKIS, O. S. Comparative shelf life study and vitamin C loss kinetics in pasteurized and high pressure processed reconstituted orange juice. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 60, n. 1, p. 21–29, 2003.

POPPE, J. **Gelatin**. In: IMESON, A. (Org.). Thickening and gelling agents for food. 2nd. ed. London: Blackie Academic & Professional, 1997. p. 164-168.

RAI, P. et al. Alternative pretreatment methods to enzymatic treatment for clarification of mosambi juice using ultrafiltration. **Journal of Food Process Engineering**, Westport, v. 29, n. 2, p. 202–218, 2006.

RAI, P. et al. Optimizing pectinase usage in pretreatment of mosambi juice for clarification by response surface methodology. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 64, n. 3, p. 397–403, 2004.

REED, J. B.; HENDRIX, C. M.; HENDRIX, D. L. **Quality control manual for citrus processing plants**. Safety Harbor: Intercit, 1986.

ROUSE, A. H.; ATCKINS, C. D. Heat inactivation of pectinesterase in citrus juice. **Food Technology**, Chicago, v. 6, n. 12, p. 219-224, 1952.

RUBIO, J.; MATIOLO, E. **Flotação avançada para o tratamento e reaproveitamento de águas poluídas**: água: fonte da vida. Porto Alegre: UFRGS, LTM, 2003. Disponível em: <www.tratamentodeagua.com.br/R10/Lib/Image/art_1034661051_FlotacaoAvancada%20.pdf>. Acesso em: 24 mar. 2008.

RUBIO, J.; SOUZA, M. L.; SMITH, R. W. Overview of flotation as a wastewater treatment technique. **Minerals Engineering**, Oxford, v. 15, n. 3, p. 139-155, 2002.

RUBIO, J. et al. Flotación como processo de remoción de contaminantes: avances e aplicaciones en la flotación por aire dissuelto. **Minerales**, Santiago de Chile, v. 57, n. 243, p. 21-28, 2002.

RUBIO, J. et al. Flotación como proceso de remoción de contaminantes I: Principios básicos, técnicas y aplicaciones. **Minerales**, Santiago de Chile, v. 56, n. 242, p. 9-18, 2001.

SÁ, C. D.; CAIXETA FILHO, J. V. **A importância do suco de frutas para o consumidor: um estudo de caso**. São Paulo: USP: CEAFA, 2002.

SAINZ, R. L. et al. Aceitabilidade de sucos clarificados de pêssegos brasileiros (*Prunus Persica (L.) Batsch*). In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 16., 2007, Pelotas. **Anais eletrônicos...** Pelotas: FAEM/UFPEL, 2007. Disponível em: <http://www.ufpel.tche.br/cic/2007/cd/pdf/CA/CA_00740.pdf>. Acesso em: 26 jan. 2009.

SAMPAIO, T. M. C. **Estudo dos sucos límpidos simples, concentrado e reconstituído de caju (*Anacardium occidentale, L.*)**. 1990. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 1990.

SCHWEIZERISCHE FERMENT AG. **La utilización de enzimas em la industria de los zumos de frutas**. Basel, 1980. (Circular técnica, n.13).

SENA, R. F. **Avaliação da biomassa obtida pela otimização da flotação de efluentes da indústria de carnes para geração de energia**. 2005. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Faculdade de Engenharia Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.

SILVA, A. P. V. et al. Estabilidade do suco clarificado de cajá (*SPONDIAS Lutea L.*) mediante emprego de enzimas pectinolíticas e agentes “fining”. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 33, n. 11, p. 1933-1938, 1998.

SILVA, A. P. V. et al. Estudo da produção do suco clarificado de cajá (*SPONDIAS Lutea L.*) **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 19, n. 1, p. 33-36, 1999.

SIN, H. N. et al. Optimization of enzymatic clarification of sapodilla juice using response surface methodology. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 73, p. 313–319, 2006.

SINDOU, E. et al. Effect of juice clarification by flotation on the quality of white wine and orange juice and drink – short communication. **Czech Journal of Food Sciences**, Praga, v. 26, n. 3, p. 223-228, 2008.

STROHM, G.; WUCHERFENNING, K.; OTTO, K. Fining and clarification of plant-derived beverages. **Advanced Food Research**, San Diego, v. 17, p. 153, 1987.

SVAROVSKY, L. Sedimentation, centrifugation and flotation. In: _____. **Solid-liquid separation processes and technology**. Amsterdam: Elsevier, 1985. p.102-106. (Handbook of powder technology, v. 5).

TAKAHASHI, T.; MIYAHARA, T.; MOCHIZUKI, H. Fundamental study of dissolved air pressure flotation. **Journal of Chemical Engineering of Japan**, Tokyo, v. 12, p. 275-280, 1979.

TESSELE F. et al. Avanços da flotação no tratamento de águas e efluentes. **Saneamento Ambiental**, São Paulo, v. 115, p. 38-45, 2005.

TRIBESS, T. B. **Estudo da cinética de inativação térmica da pectinesterase em suco de laranja natural minimamente processado**. Dissertação (Mestrado em Engenharia) - Escola Politécnica, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

VAN BUREN, J. P.; ROBINSON, W. B. Formation of complex between protein and tannic acid. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 17, n. 4, p. 772-777, 1969.

VANDRESEN, S. **Caracterização físico-química e comportamento reológico de sucos de cenoura e laranja e suas misturas**. 2007. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2007.

VARNAN, A. H.; SUTHERLAND, J. P. **Bebidas: tecnologia, química y microbiología**. Zaragoza: Acribia, 1994.

WOLKOFF, D. B. et al. Avaliação da estabilidade de bebida repositora hidroeletrólítica à base de sucos microfiltrados de acerola e caju. In: CONGRESO IBEROAMERICANO DE INGENIERÍA DE ALIMENTOS, 4., 2003, Valparaíso, **Programas e Resumos...** Valparaíso: UTFSM, 2003. p. 199.

ZOECKLEIN, B. **Bentonite fining of juice and wine**: 1988. Disponível em: <www.fst.vt.edu/extension/enology/downloads/bentonite01.pdf>. Acesso em: 23 abr. 2009.

Carolina Maria Albuquerque

Possui graduação em Engenharia de Alimentos pela UNESP (2001) e pós-graduação *lato sensu* em Gestão da Produção pela Universidade Federal de São Carlos (2004). Ingressou em 2006 no Programa de Pós-graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos, nível mestrado, área de concentração em Engenharia de Alimentos, para desenvolver pesquisa sobre a clarificação de sucos cítricos por processo de flotação auxiliado por enzimas pectinolíticas e agentes clarificantes, sob orientação do Prof. Dr. Roger Darros-Barbosa. Atuou em indústrias cítricas e sucroalcooleira, nas quais desenvolveu trabalhos relacionados ao processamento da laranja e subprodutos (rendimento e eficiência industrial), na produção de levedura (garantia de qualidade), questões ambientais (fertirrigação, postos de abastecimento de combustíveis, licenciamento ambiental, projetos de reflorestamento, emissões gasosas, reserva legal e área de preservação permanente) e na implantação de Boas Práticas de Fabricação, Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle e ISO 9001:2000 (auditora líder em sistemas de gestão de qualidade). Representou as empresas em que atuou em Comitês Técnicos ligados à Associação Brasileira dos Exportadores de Citrus (ABECitrus) e no Grupo de Trabalho de Emissões Gasosas das Indústrias Cítricas ligado à Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB). Lecionou em cursos de pós-graduação *lato sensu* e técnicos profissionalizantes na Fundação Educacional de Fernandópolis (FEF) e na Faculdade de Chapadão do Sul (FACHASUL); tendo ministrado disciplinas nas áreas: “Máquinas e Equipamentos”, “Gestão de Qualidade” e “Gestão Ambiental no Setor Sucroalcooleiro”.

Autorizo a reprodução xerográfica para fins de pesquisa.

São José do Rio Preto, 14/08/2009.

Assinatura